Untersuchungen über den Einfluß des Lichtes auf die Bewegungsreaktionen von Porphyridium cruentum

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

im

Fachbereich Biologie

der

Philipps-Universität Marburg/Lahn

Vorgelegt von

HARTWIG SCHUCHART

aus Grebenstein

Marburg/Lahn 1978

Druck: Mauersberger, Marburg

Untersuchungen über den Einfluß des Lichtes auf die Bewegungsreaktionen von Porphyridium cruentum

INAUGURAL-DISSERTATION

zur
Erlangung der Doktorwürde
im
Fachbereich Biologie
der
Philipps-Universität Marburg/Lahn

Vorgelegt von

HARTWIG SCHUCHART

aus Grebenstein

Marburg/Lahn 1978

Druck: Mauersberger, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Vom Fachbereich Biologie der Philipps-Universität

Marburg/Lahn als

Dissertation angenommen am: 17.1.1978

Tag der mündlichen Prüfung: 17.2.1978

Berichterstatter: Prof. Dr. W. Nultsch

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Throm

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Wilhelm Nultsch, möchte ich an dieser Stelle für die Themenstellung und die hilfreiche Diskussion und Unterstützung herzlich danken.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546807_0037

GLIEDERUNG

1.	EINLEITUNG	1
1.1.	Terminologische Fragen	2
1.2.	Methodik der Untersuchung phobischer Reaktionen	4
2.	MATERIAL UND METHODE	9
2.1.	Anzucht des Versuchsmaterials	10
2.1.1.	Wachstumskurve	10
2.1.2.	Pigmentveränderungen	11
2.1.3.	Homokontinuierliche Anzucht	15
2.2.	Versuchsaufbau und -auswertung	16
2.2.1.	Lichtfallenversuche	16
2.2.2.	Proportionalität von Meßsignal und Fallendichte	21
2.2.3.	Versuche zur Bestimmung der Bewegungsgeschwindigkeit	25
2.2.4.	Versuche zur Phototaxis	27
2.2.5.	Photosynthesemessungen	30
3.	WEISSLICHTVERSUCHE	32
3.1.	Viskosität des Versuchsmediums	32
3.2.	Dichte der Algensuspension	33
3.3.	Schichthöhe des Agars	34
3.4.	Kinetik der Photoakkumulation	36
3.5.	Dosis-Effekt-Abhängigkeit	38

4. VERSUCHE MIT MONOCHROMATISCHEM LICHT 40

4.1. Einfluß von monochromatischem Licht auf die Pigmentzusammensetzung und die Zellvermehrung 40

4.2. Dosis-Effekt-Kurven und Aktionsspektrum der Photoakkumulation 46

4.3. Doppelbelichtung mit rotem Hintergrundlicht 51

4.4. Randeffekt 56

4.5. Hofbildung und Phototaxis 62

4.6. Doppelbelichtung mit blauem Hintergrundlicht 66

5. VERSUCHE MIT HEMMSTOFFEN DER PHOTOSYNTHESE 72

5.1. Hemmstoffversuche mit DCMU 73

5.1.1. Permeation von DCMU 73

5.1.2. Einfluß von DCMU auf die Sauerstoff-Entwicklung bei unterschiedlicher Inkubationsdauer 76

5.1.3. Einfluß von DCMU auf die Photoakkumulation bei unterschiedlicher Inkubationsdauer 80

5.1.4. Einfluß der Konzentration von DCMU auf die Photoakkumulation 82

5.1.5. Einfluß der DCMU-Konzentration auf die Bewegungsgeschwindigkeit 85

5.1.6. Einfluß der Konzentration von DCMU auf die Phototaxis 87

5.1.7. Fallenaufhellung bei DCMU 88

5.1.8. Pigmentveränderungen 91

5.2. Versuche mit DBMIB 93

5.3. Versuche mit DSPD 96

5.4. Versuche mit Natriumazid 99

6. DISKUSSION 102

7. ZUSAMMENFASSUNG 123

8. LITERATURVERZEICHNIS 127

9. TAFEL 146

1. EINLEITUNG

Die Fähigkeit einzelner Pflanzen, auf Lichtreize mit spezifischen Bewegungsreaktionen zu antworten, ist bereits von Varro (116-27 v. Chr.) und Plinius d.Ä. (23-79 n.Chr.) beschrieben und als "Heliotropismus" bezeichnet worden. Die Entdeckung freier, durch Licht beeinflußbarer Ortsbewegungen wurde jedoch erst möglich, nachdem mit Hilfe des Mikroskops die "Infusorien" in Aufgüssen verschiedener pflanzlicher Materialien mit unterschiedlichen Süßwasserproben beobachtet werden konnten. Trotzdem verging seit den bahnbrechenden Untersuchungen der Infusorien durch Leeuwenhook (1696) noch einmal fast ein Jahrhundert, bis lichtabhängige Änderungen des Bewegungsverhaltens beschrieben wurden.

Die erste Schilderung photokinetischer und photophobischer Reaktionsweisen findet sich bei Ingenhousz (1784), der bei "grünen Insekten" - wahrscheinlich Euglenen - eine Erhöhung der Bewegungsaktivität durch Sonnenlicht feststellte und Schockreaktionen beobachtete, wenn sie in den Brennpunkt eines Vergrößerungsglases gerieten.

Die zur Richtung der einfallenden Lichtstrahlen orientierte Bewegung ganzer Algenpopulationen wurden von Collob (1791) und Olivi (1793), genauer dann von G.R. Treviranus (1803) und L.Chr. Treviranus (1817) beschrieben. Die Versuchsanordnung war bei diesen wie bei vielen späteren Experimenten sehr einfach und ließ keine Ent-

scheidung der Frage zu, ob sich Algenzellen an einem Ort ganz bestimmter Beleuchtungsintensität ansammeln oder sich unabhängig von der Helligkeit zur Lichtquelle hin- oder von ihr fortbewegen. Erst durch die Versuche von Strasburger (1878) und Buder (1917) mit zur Einfallsrichtung wechselnden Intensitätsgradienten des Lichts konnte sicher nachgewiesen werden, daß die von Strasburger "Phototaxis", von Pfeffer (1904) "Topotaxis" genannte Orientierungsbewegung sich experimentell und phänomenologisch abtrennen läßt von Bewegungsreaktionen, mit denen frei bewegliche Organismen auf eine Änderung der Beleuchtungsstärke bzw. der spektralen Zusammensetzung des Reizlichtes antworten.

1.1. Terminologische Fragen

Eine plötzliche Änderung der Beleuchtung ruft bei vielen Algen eine aus mehreren Teilprozessen bestehende Bewegungsreaktion hervor, die in der Regel zu einer Änderung der Bewegungsrichtung führt. Da dieses Bewegungsverhalten oft den Charakter einer Schreckreaktion besitzt, wurde der Begriff "Photophobotaxis" von Pfeffer (1904) eingeführt. Es hat sich jedoch gezeigt, daß

1. eine "stop reponse" Teil einer Orientierungsbewegung sein kann (Hand, 1970; Hand and Haupt, 1971; Forward, 1973; Diehn et al., 1975; Feinleib, 1975),

2. eine "stop reponse" auch spontan auftreten kann (Hand et al., 1967)

Die Diskussion terminologischer Fragen ist derzeit noch nicht zu einem allgemein akzeptierten und befriedigenden Ergebnis gelangt, da es offensichtlich Schwierigkeiten bereitet, sich auf ein bestimmtes Kriterium bei der Benennung festzulegen und dieses konsequent auch auf die anderen Bewegungsreaktionen anzuwenden.

Als solches kann die A r t d e s R e i z e s in Frage kommen (z.B. Intensitätserhöhung oder -verminderung), weiterhin die R e a k t i o n, mit der ein Reiz beantwortet wird (z.B. Schreckbewegung) und schließlich das R e s u l t a t, zu dem die Reaktion führt (z.B. zu einer Fallenansammlung).

Ohne in diese Diskussion eingreifen zu wollen, soll im weiteren folgende Terminologie verwandt werden:

Photokinese bezeichnet die Lichtintensitäts- oder Wellenlängenabhängige Änderung der Bewegungsgeschwindigkeit; sie ist positiv, wenn die Bewegungsgeschwindigkeit über dem Wert der Dunkelkontrolle liegt, negativ, wenn sie ihn unterschreitet (nach Haupt, 1959; Nultsch, 1962a).

Bei der Phototaxis (='Photo-Topotaxis' nach Pfeffer, 1904) steht die Bewegungsrichtung in Beziehung zur Richtung des einfallenden Lichts; sie ist positiv, wenn sich die Organismen zur Lichtquelle hin-, negativ, wenn sie sich von ihr wegbewegen.

Durch Änderung der Lichtqualität oder -quantität lassen sich photo-phobische Reaktionen auslösen (= 'Photo-Phobotaxis' nach

Pfeffer). Wird eine Verminderung der Intensität - oder eine von den Organismen als solche empfundene Änderung der spektralen Zusammensetzung des Lichtes - mit einer phobischen Reaktion beantwortet ('positive Photo-Phobotaxis' nach Pfeffer, 1904; Haupt, 1959; 'inverse phobic response' nach Diehn, 1970; 1973; 'step down reaction' nach Haupt, 1974), so sammeln sich die Organismen in einem eingestrahlten Lichtfeld an (Photoakkumulation). Im umgekehrten Fall ('negative Photo-Phobotaxis', 'direct phobic response', 'step up reaction') wird die Lichtfalle entleert.

1.2. Methodik der Untersuchung phobischer Reaktionen

Nach Hand und Davenport (1970) lassen sich zwei unterschiedliche experimentelle Ansätze zur Untersuchung phobischer Reaktionen unterscheiden:

a) 'mass - movement' oder 'population methods' und

b) 'individual cell methods'.

Werden die Bewegungsreaktionen einzelner Zellen untersucht ('individual cell methods'), so müssen die Messungen wegen der großen Streuung der Meßwerte oft wiederholt werden. Bei Populationsmethoden hingegen ist jeder Meßwert bereits das Mittel aus vielen Einzelreaktionen und bietet eine bessere statistische Absicherung. Nahezu alle Populationsmethoden zur Untersuchung

phobischer Reaktionen basieren auf dem Prinzip der Lichtfalle. Ansammlungen oder Entleerungen in einer Lichtfalle können aber durch verschiedene Effekte überlagert bzw. erst erzeugt werden.

1.) Der 'motility artefact' (Clayton, 1957; 1964) tritt auf, wenn die Zellen in der Falle eine andere Bewegungsgeschwindigkeit besitzen als im Umfeld. Werden z.B. Zellen in einem dunklen Umfeld bewegungslos, so kommt es selbst bei phobisch wirksamem Fallenlicht zu Entleerungen. Um diese Fehlerquelle zu beseitigen, wurde von Nultsch und Häder (1974) eine zusätzliche Hintergrundbelichtung benutzt.

2.) Werden von den Zellen in der Lichtfalle chemotaktisch wirksame Substanzen (z.B. photosynthetisch gebildeter Sauerstoff) in das Medium abgegeben, so führt das bei positiver Chemotaxis zu Ansammlungen, die phobische Reaktionen übertragen oder sogar vortäuschen können. Die Möglichkeit einer positiven Aerotaxis ist von Nultsch (1956) und Checcucci et al. (1974) diskutiert worden.

Negative Chemotaxis kann im umgekehrten Fall dazu führen, daß besonders bei hoher Fallendichte der Eintritt weiterer Organismen in die Lichtfalle gehemmt wird.

3.) In dem Lichtfeld wirken angestrahlte Organismen als sekundäre Lichtquellen und können andere Organismen im Fallenumfeld phototaktisch in das Lichtfeld locken.

Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, auf welche Weise eine Überlagerung der phobischen Reaktion von Porphyridium durch andere lichtabhängige Reaktionen vermieden werden kann. Ein Aktionsspektrum, das nicht durch solche Überlagerungen verfälscht ist, kann wichtige Hinweise auf den Photorezeptor geben. Ob und auf welche Weise dieser Photorezeptor mit der Photosynthese verbunden ist, soll mit Hilfe von Hemmstoffen der Photosynthese geklärt werden.

Für die Beantwortung dieser Fragen ist Porphyridium cruentum aus verschiedenen Gründen ein besonders geeignetes Versuchsobjekt:

1.) Die seit Cohn (1866) bekannte phototaktische Wirksamkeit des Blaulichtes und die Unwirksamkeit des Rotlichtes auf grüne Flagellaten schien sich zunächst bei allen Eukaryonten zu bestätigen und auf einen grundsätzlichen Gegensatz zu den Prokaryonten zu deuten (Nultsch, 1971), bei denen die phobische Reaktion eng an den photosynthetischen Elektronentransport gekoppelt ist (Nultsch, 1968; 1973a; 1973b; Nultsch und Jeeji-Bai; 1966; Throm, 1968).

Neuerdings wurden allerdings auch bei Eukaryonten Photoakkumulationen im Rotlicht gefunden, so bei Euglena (Checcucci et al. 1974; Mikolajczek and Diehn, 1976;) und Navicula peregrina (Wenderoth, 1975). Der sichere Nachweis, daß Chlorophyll als Photorezeptorpigment der phobischen Reaktion fungieren kann, ist jedoch bisher nur bei Navicula erbracht worden. Die Untersuchung

des phobischen Verhaltens weiterer Eukaryonten ist daher von besonderem Interesse.

2.) Die Interpretation von Aktionsspektren bei Flagellaten wird besonders dadurch erschwert, daß nach der vorherrschenden Ansicht mindestens zwei absorbierende Systeme beteiligt sind: Rezeptorpigment(e) und Beschattungspigmente bzw. -strukturen. Darüber hinaus konnte bei dem Dinoflagellaten Gyrodinium dorsum nachgewiesen werden, daß das Phytochromsystem je nach Vorbelichtung der Zellen die spektrale Absorption des für die stop response verantwortlichen Photorezeptors reversibel verändern kann, was zu einem shift der Maxima in den Aktionsspektren führt (Forward and Davenport, 1968; Forward, 1970; 1973).

3.) Während phototaktische Reaktionen bei Rotalgen bereits wiederholt beobachtet wurden (Geitler, 1953; Vischer, 1955; Pringsheim, 1968; Lin et al., 1975; Hill and Sommerfeld, 1977), waren phobische Reaktionen in dieser Algengruppe bisher unbekannt.

4.) Das Vorhandensein der Biliproteine und eine mit Schleimausscheidung verbundene gleitende Bewegung erlauben einen direkten Vergleich mit den prokaryontischen Blaualgen.

5.) Da die Biliproteine nach vorherrschender Meinung dem Photosystem II angehören, der überwiegende Teil des Chlorophylls hingegen dem Photosystem I zugerechnet wird (s. Ley and Butler,

1976; Ley et al., 1977), können unter bestimmten Voraussetzungen beide Photosysteme getrennt voneinander angeregt werden.

6.) Porphyridium ist sowohl in seinen Photosyntheseleistungen wie in seiner Ultrastruktur gut untersucht worden.

2. MATERIAL UND METHODE

Alle Untersuchungen wurden an der zu den Bangiophycidae gehörenden einzelligen Rotalge Porphyridium cruentum (Agardh) Naegeli durchgeführt. Der verwendete Stamm wurde von M.R. Droop aus Seewasser isoliert. In der Algensammlung des Pflanzenphysiologischen Institutes der Universität Göttingen wird dieser Stamm unter der Nr. 1380-1d geführt. Der zu Vorversuchen ebenfalls herangezogene Stamm Nr. 1380-1c aus der gleichen Sammlung wurde nicht weiter verwendet, da er im Vergleich mit Stamm 1380-1d eine stärkere phototaktische Reaktionsfähigkeit zeigte. Diese kann besonders in Versuchen nach der Populationsmethode die eigentlichen phobischen Reaktionen überlagern und zu Fehlinterpretationen führen (s.o.).

Bakterienfreie Stammkulturen wurden als stehende Flüssigkeitskulturen in 100 ml Erlenmeyerkolben und unter Zusatz von 1,5 % Agar in Schrägagarröhrchen gezogen. Als Nährlösung für Stamm- und Versuchskulturen erwies sich das anorganische Medium nach Jones et al. (1963) als besonders geeignet, weil bei sehr gutem Wachstum der Algen eine Kontamination mit Bakterien oder Pilzen nur sehr selten auftrat.

2.1. Anzucht des Versuchsmaterials

2.1.1. Wachstumskurve

Für die Weißlichtversuche werden die Algen in Durchlüftungskulturen gezogen (Koch, 1953). Hierzu werden Kulturröhren und Nährlösung (=NL) getrennt autoklaviert (30 min, 1 bar Überdruck). Eine Kulturröhre wurde mit 300 ml NL steril gefüllt und mit ca. 30 ml Algensuspension angeimpft. Die Anzucht erfolgte in einem Preßglasbecken, das mit aqua dest. gefüllt war. Die Wassertemperatur wurde von einem Einhängethermostaten (Fa. Haake, Berlin, Typ E 51) auf 21 $\pm$ 1°C gehalten. Die Kulturröhren wurden mit einem 2%igen CO_2-Luftgemisch bei einem Durchsatz von 3 l/h begast und einseitig mit 4300-4500 lx Weißlicht beleuchtet. Um eine tagesperiodische Wachstumsrhythmik und damit möglicherweise verbundene Schwankungen im Reaktionsverhalten der Organismen auszuschalten, wurde mit Dauerlicht bestrahlt. Außerdem ist die Wachstumskonstante im Dauerlicht erheblich höher als im Licht-Dunkel-Wechsel, wie Jones et al. (1963) zeigen konnten. Als Lichtquelle diente eine Kombination von zwei Leuchtstoffröhren Tageslicht 40 W (Atlas 54000) und je einer Leuchtstoffröhre Universalweiß 40 W (Sylvania/Lifeline) und Warmton 40 W (Atlas 54004).
Da als Inokulum Material verwendet wurde, das sich in der logarithmischen Wachstumsphase befand, ging die Kultur ohne Anlaufsphase nach einer nur ca. 20 Stunden dauernden Beschleunigungsphase in die logarithmische Phase über. Bei einer Dichte von

1,5 . 10^7 Zellen/ml endet die logarithmische Phase. Die Wachstumskurve (Abb. 1) biegt nach ca. 4 Tagen allmählich ab und erreicht nach ca. 2 Wochen die stationäre Phase. Für Versuche und zum Animpfen wurden die Röhren bei einer Dichte von 10^7 Zellen/ml abgeerntet.

2.1.2. Pigmentveränderungen

Um zu überprüfen, ob sich während des Wachstums einer Kultur die relativen Anteile der im sichtbaren Licht am stärksten absorbierenden Pigmente (Chlorophyll, Carotinoide, Phycoerythrin, Phycocyanin, Allophycocyanin) an der Gesamtabsorption verändern, wurden nach bestimmten Zeitabständen in vivo-Absorptionsspektren aufgenommen (Shimadzu MPS 5000). Da in diesen Spektren (Abb. 2) die Absorption bei 740 nm von Pigmenten unabhängig und im wesentlichen durch Streulichtverluste an

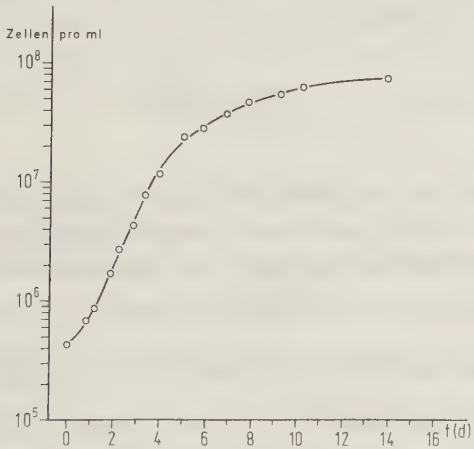


Abb. 1: Wachstumskurve von Porphyridium cruentum (ca. 4400 lx Weißlicht, 21°C). Abszisse: Kulturdauer in Tagen; Ordinate (log): Zellzahl/ml

Phasengrenzen bedingt ist, kann der Pigmentanteil durch Ausmessen der über der Absorption bei 740 nm liegenden Höhe der Absorptionsmaxima ausreichend genau bestimmt werden (nach Brown and Richardson, 1968).

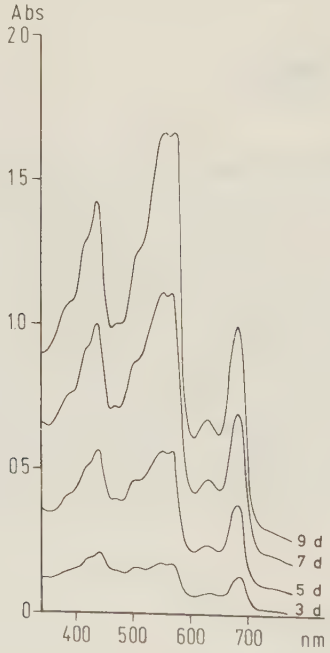


Abb. 2: Absorptionspektren von Porphyridium. Die Proben wurden zu den angegebenen Zeiten einer wachsenden Durchlüftungskultur entnommen (vergl. Abb. 1). Abszisse: Wellenlänge in nm; Ordinate: Absorption

Der Vergleich der Absorptionsspektren läßt erkennen, daß die optische Dichte einer wachsenden Kultur nicht in allen Spektralbereichen gleichmäßig zunimmt. Das wird besonders deutlich, wenn man die Absorption des Chlorophylls im Bereich der Soret-Bande

mit der Absorption des Phycoerythrins (=PE) vergleicht. Das Verhältnis von Phycoerythrin (gemessen als Absorption bei 546 nm) zu Chlorophyll (gemessen bei 676 nm) steigt in der zweiten Hälfte der Log-Phase steil an und nimmt auch in der Verzögerungsphase weiter zu (Abb. 3).

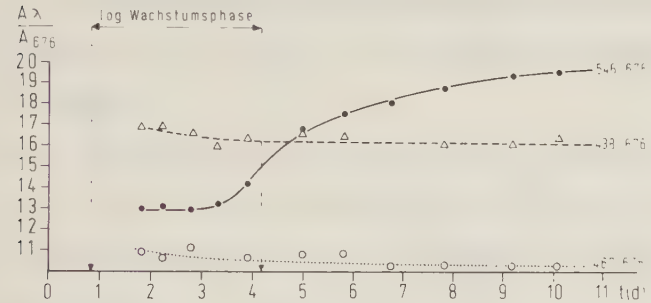


Abb. 3: Veränderung der Pigmentzusammensetzung einer wachsenden Kultur, bezogen auf die Absorption des Chlorophylls bei 676 nm. Die Absorption bei ausgesuchten Wellenlängen A_λ sind repräsentativ für Phycoerythrin (546 nm), Chlorophyll und Carotinoide (438 nm) und Carotinoide (467 nm). Abszisse: Kulturdauer in Tagen; Ordinate: Verhältnis von A_λ zu der Absorption bei 676 nm

Demgegenüber erweist sich das Verhältnis von Carotinoiden zu Chlorophyll $\frac{\text{Abs } 467}{\text{Abs } 676}$ auch in der Log- und Verzögerungsphase als sehr stabil. Die Kurve für $\frac{\text{Abs } 438}{\text{Abs } 676}$ verläuft erwartungsgemäß sehr ähnlich, da bei 438 nm vor allem Chlorophyll und Carotinoide, nur sehr schwach hingegen die Phycobiliproteine absorbieren (Biliproteinrohextrakte: Nultsch und Dillenburger, unveröff.; Methanol-extrahierte Zellen: Gantt and Conti, 1966; Phycobilisomenpräparationen: Gantt and Lipschultz, 1972; Phycoerythrin: French and Young, 1952;

Koch, 1953; Brody and Emerson, 1959; Leibo and Jones, 1964; Fujimori and Pecci, 1970).

Bei stark überalterten Kulturen sinkt allerdings der PE-Gehalt stark ab. Aus der Schulter bei 503 nm wird ein deutlicher Gipfel mit Verschiebung nach 497 nm, was darauf hinweist, daß an der Absorption bei 503 nm außer dem PE in erheblichem Maße auch Carotinoide beteiligt sind (Abb. 4).

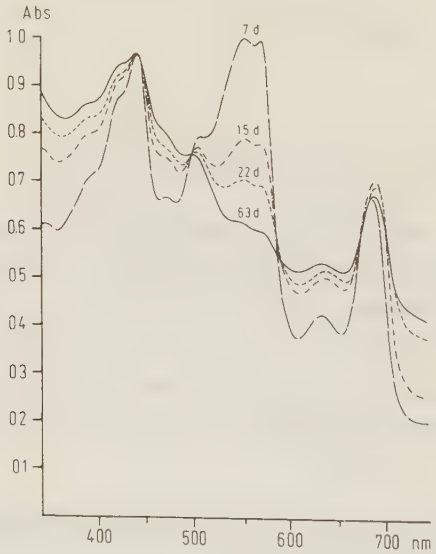


Abb. 4: Absorptionsspektren einer alternden Kultur von Porphyridium. Der Kultur wurden nach der jeweils angegebenen Kulturdauer Proben entnommen, deren Dichte auf gleiche Absorption bei 440 nm eingestellt wurde

In einer Durchlüftungskultur nimmt unter den gewählten Bedin-

gungen der Lichtgenuß der Einzelzelle offensichtlich bereits in der Mitte der Log-Phase durch Streuung und Absorption ab, so daß die Kultur zunehmend in Schwachlichtbedingungen gerät. Die Adaptation an die neuen Lichtverhältnisse ermöglicht noch einige Zeit ein logarithmisches Wachstum, bis die zu starke Selbstbeschattung und eventuell wachstumshemmende Stoffwechselendprodukte bei hoher Kulturdichte die Generationsdauer zunehmend verlängern.
Die Kontrolle der Pigmentverhältnisse zeigt, daß zu verschiedenen Zeiten der Log-Phase entnommenes Material durchaus nicht - wie bisher angenommen - als physiologisch einheitlich betrachtet werden kann.

2.1.3. Homokontinuierliche Anzucht

Die physiologische Heterogenität der Algen in der zweiten Hälfte der Log-Phase und die Gefahr, durch regelmäßige Verdünnung beim Animpfen der Kulturröhren unkontrollierte Teilsynchronität zu induzieren, ließen es notwendig erscheinen, mit homokontinuierlich gezogenem Material zu arbeiten.
Für die Farblichtversuche wurde Porphyridium daher in einem Lichtthermostaten (Fa. Kniese, Marbach) nach Senger et al. (1972) mit photoelektrisch gesteuerter automatischer Verdünnung unter den gleichen Licht- und Temperaturbedingungen wie die für Weißlichtversuche verwendeten Kulturen (s. S. 10) angezogen.

Abb. 5 zeigt den Lichtthermostaten mit der autoklavierbaren Kulturanlage. Die Möglichkeit zur sterilen Entnahme erlaubt, die Kultur steril 2-4 Monate zu betreiben. Die Kulturgefäße brauchen erst ausgewechselt zu werden, wenn sich Algen an der Wand der Kulturröhre (2) ansetzen.
Ein hinter dem Eingangsverstärker angeschlossener Schreiber (8) (Servogor 8, Metrawatt) mit zusätzlichem Marker (7) diente zur Aufzeichnung der Verdünnugstätigkeit und Kontrolle der Kulturdichte. Durch sehr langsamen Zufluß der Nährlösung wurde erreicht, daß im Durchschnitt 1 x in 5 min verdünnt wurde.
Auf diese Weise wurden Dichteschwankungen von 1,7 % nicht überschritten. Photometrische Messungen (Shimadzu MPS-5000) über einen Zeitraum von 17 Tagen ergaben sehr geringe Absorptionsunterschiede mit Standardabweichungen von ± 1,51 % bei 668 nm und ± 1,43 % bei 564 nm.

2.2 Versuchsaufbau und -auswertung

2.2.1. Lichtfallenversuche

Die abgeernteten Algen wurden in einer Tischzentrifuge (Christ Heräus, Labofuge II) bei 2000 U/min (=ca. 920 x g) 10 min zentrifugiert und nach Zellzahlbestimmung in der Thoma-Zählkammer bzw. Absorptionsmessung bei 740 nm im Spektralphotometer auf die

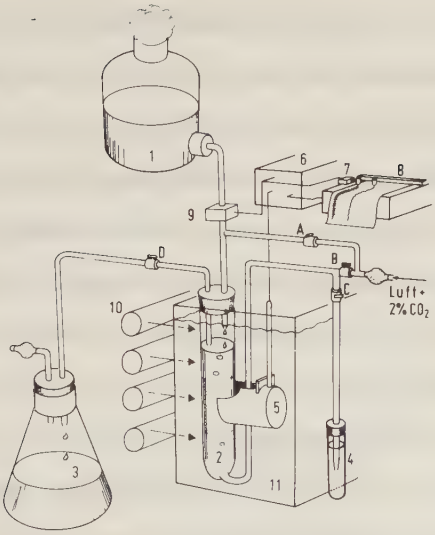


Abb. 5: Kulturanlage zur homokontinuierlichen Anzucht (nach Senger et al., 1972) mit kontinuierlicher Aufzeichnung der Suspensionsdichte und der Verdünnungstätigkeit. Zur sterilen Entnahme werden die Schlauchklemmen A und C geöffnet, B und D geschlossen. Die Algensuspension wird durch das Kapillarrohr der Kulturröhre aus dem Rohrende, das während des Kulturbetriebs in 70%-iges Äthanol eingetaucht ist, herausgepreßt.
1. Vorratsgefäß, 2. Kulturröhre, 3. Auffanggefäß, 4. Entnahmevorrichtung, 5. Photoelement, 6. Steuergerät, 7. Marker für die Verdünnungstätigkeit, 8. Schreiber, 9. Magnetventil, 10. Leuchtstoffröhren, 11. Wasserbad

gewünschte Dichte - falls nicht anders angegeben: 2,5 . 10^7 Zellen/ml bzw. OD_{740}=0,16 - eingestellt.

Die Algensuspension wurde auf 40° C erwärmt und zu gleichen Teilen

mit einem auf 40° C abgekühlten 0,6%igen Nährlösungs-Agar vermischt. Bei den Hemmstoffversuchen wurden 1/4 Vol 1,2%iger Agar, 1/4 Vol Hemmstofflösung in NL und 1/2 Vol Algensuspension bei 40°C homogen verrührt, so daß die Agarendkonzentration immer 0,3% betrug. Von diesem Gemisch wurden bei den Versuchen zur Bestimmung der optimalen Schichtdicke unterschiedliche Mengen, sonst immer 15 ml in Polystyrol-Petrischalen (Greiner, 94 mm Ø) abpipettiert. Diese Schalen erwiesen sich als gut geeignet, weil Boden und Deckel schlierenfrei und ausreichend plan sind.

Die erkalteten Platten wurden in lichtdichte Kästen gesetzt, in deren Boden mit Hilfe eines gestanzten Messingbleches sechs 3 x 3 mm große Lichtfallen ausgespart sind.

Eine in den Deckel eingeklebte schwarze Kartonscheibe verhindert die Reflexion des eingestrahlen Lichts von der Deckelinnenseite. Eine Überlagerung der eigentlichen Lichtfalle durch eine zweite, allerdings schwächere (< 10%) und weniger scharfe (Tafel 1.1) kann auf diese Weise vermieden werden. Kondenstropfen können sich, wenn überhaupt, nur in dem schmalen Zwischenraum zwischen Pappscheibe und Deckelinnenseite bilden, wo sie vom Karton rasch aufgesaugt werden.

In Versuchen, bei denen die Zunahme der Ansammlungsdichte über einen längeren Zeitraum verfolgt werden sollte, mußten die Versuchsschalen nach dem Ausmessen zur weiteren Bestrahlung in der ursprünglichen Position wieder in die Lichtschutzkästen eingesetzt

werden. Hierfür bewährte sich ein Einsatz (4) mit einer dem Schalenunterteil angepaßten Aussparung, der in das Unterteil des Lichtschutzkastens (1) eingeklebt wurde. Ein je auf diesen Einsatz und an die seitliche Wand des Schalenunterteils angeklebtes Plexiglasblöckchen (2) diente als Anschlag (Abb. 6).

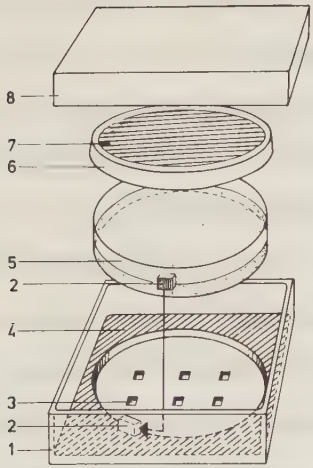


Abb. 6: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus

1. Unterteil des Lichtschutzkastens,
2. Anschlagblöckchen,
3. quadratische Aussparung (Lichtfalle),
4. Einsatz mit Aussparung für das Schalenunterteil,
5. Unterteil der Versuchsschale mit seitlich angeklebtem Anschlagblöckchen,
6. Schalendeckel,
7. in den Schalendeckel eingeklebte schwarze Pappscheibe,
8. Deckel des Lichtschutzkastens

Bei zusätzlicher Einstrahlung eines Hintergrundlichtes wurden innen und außen sandstrahlmattierte Petrischalendeckel verwendet, die durch die Mattierung der Innenseite Reflexionen verhinderten und durch die hochgradige Lichtdiffusion eine Linsenwirkung von Kondenswassertropfen am Schalendeckel unwirksam machten.

Für die Weißlichtversuche und für Versuche mit monochromatischem Licht bis 392 nm wurden Projektoren (Leitz, Prado) mit Quarzjodidlampen (250 W) verwendet.

Unterschiedliche Weißlichtintensitäten wurden bei gleicher Ausgangshelligkeit durch Einsetzen von Neutralglasfiltern eingestellt, um die Farbtemperatur nicht zu verändern.

Monochromatisches Licht wurde im sichtbaren Bereich mit Hilfe von Interferenzlinienfiltern (Schott & Gen.) mit einer Durchlässigkeit von 30-53 % und einer Halbwertsbreite von 9-18 nm (Ø 11,8 nm) erzeugt. Die Intensität des monochromatischen Lichtes wurde über Regeltransformatoren bzw. Triac-Regler eingestellt.

Zur Bestrahlung im UV-Bereich wurden Xenonhochdruckbrenner (Schoeffel, Typ 102, 8,8 KW) mit Gittermonochromatoren (Schoeffel, GM 250) verwendet. Die Absorption der Wärmestrahlung erfolgte bei Licht bis 360 nm durch luftgekühlte KG 1 - Wärmeschutzfilter (Schott & Gen.), im kürzerwelligen UV mußten mit Wärmeleitblechen versehene Wasserküvetten mit Suprasil-Scheiben (Schoeffel) eingesetzt werden.

Für die Messung der Beleuchtungsstärke wurde ein Luxmeter (Lange, Berlin) benutzt, zur Energiemessung der monochromatischen Strah-

lung eine Thermosäule (Kipp & Zonen) mit einem Mikrovoltmeter (Keithley Instruments, 155). Zum Ausmessen einzelner Lichtfallen wurde eine PIN-Diode (PIN 20 B, UDT) mit nachgeschaltetem Multimeter (Keithley 165) gegen die Thermosäule geeicht. Bei unterschiedlicher Helligkeit der Lichtfallen einer Schale wurde mit Deckgläsern so ausgeglichen, daß Differenzen > 5% nicht auftraten.

Die durch die Photoakkumulation entstandenen Dichteunterschiede wurden mit einem von Nultsch (1962 b) beschriebenen Schwärzungsmesser (Lange, Berlin) ausgemessen (Abb. 7), bei dem die mit gleichmäßiger Geschwindigkeit über einen Spalt bewegten Ansammlungen von einem Mikroskopobjektiv (15 x, Zeiss) auf ein Photoelement abgebildet werden. Die Spannungsänderungen wurden mit einem Kompensationsschreiber (Servogor S, Metrawatt) aufgezeichnet. Über das Meßlicht wurde ein RG N 9-Kantenfilter (Schott & Gen.) mit einer λ_H bei 725 nm eingeschoben (Abb. 8), so daß das Meßsignal nur noch von den durch Streulichtverluste hervorgerufenen Transmissionsänderungen abhängt.

2.2.2. Proportionalität von Meßsignal und Fallendichte

Um zu quantitativen Aussagen zu gelangen, mußte geprüft werden, ob das Meßsignal des Schwärzungsmessers den Transmissionsänderungen proportional ist, die durch Fallenansammlungen hervorgerufen werden.

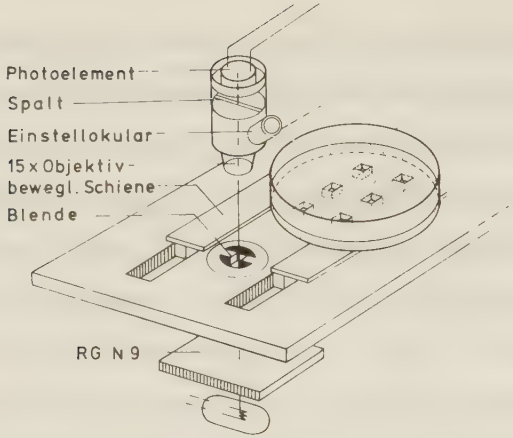


Abb. 7 : Schwärzungsmesser mit Versuchsschale

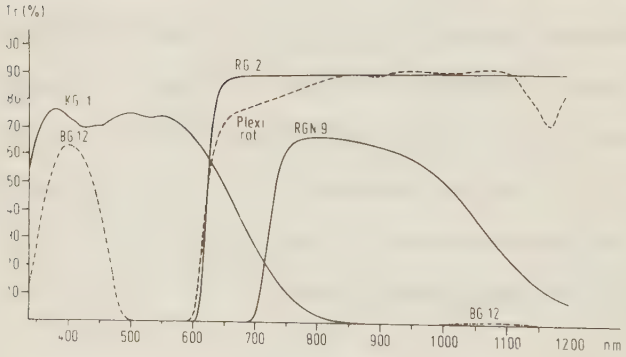


Abb. 8 : Transmissionskurven der verwendeten Farbgläser

Zu diesem Zweck wurden über die Versuchsschale Diagläser in den Strahlengang des Schwärzungsmessers gehalten. Der Transmissionsverlust der jeweiligen Anzahl von Gläsern wurde zuvor mit einem Luxmeter ermittelt. Innerhalb des Meßbereiches (10 mV Skalenbreite) zeigte sich eine gute Proportionalität von Transmission und Photospannung (Abb. 9), so daß sich Korrekturfaktoren erübrigten.

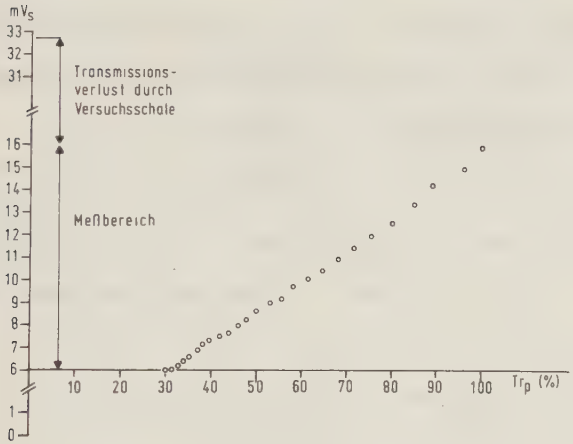


Abb.9 : Abhängigkeit des Schwärzungsmesser-Signals (in mV) von der Proben-Transmission (Tr_p). Die Versuchsschale mit den in Agar verteilten Algen bewirkt einen Transmissionsverlust von ca. 50 % (Abfall der Photospannung von 32.7 mV auf 16.0 mV). Durch eingeschobene Diagläser wird die Transmission z u s ä t z l i c h vermindert. Innerhalb des für die Ausmessung von Photoakkumulationen benötigten Meßbereichs (6 - 16 mV) kann eine Verminderung der Transmission auf 30 % noch erfaßt werden.

Der Spalt direkt unter der Petrischale wurde auf 2 mm Länge begrenzt, so daß die besonders bei Weiß- und Blaulichtbestrahlung auftretenden randlichen Ansammlungen (s. S. 56) am oberen und unteren Fallenrand abgedunkelt und nicht mitgemessen wurden (Abb. 10).

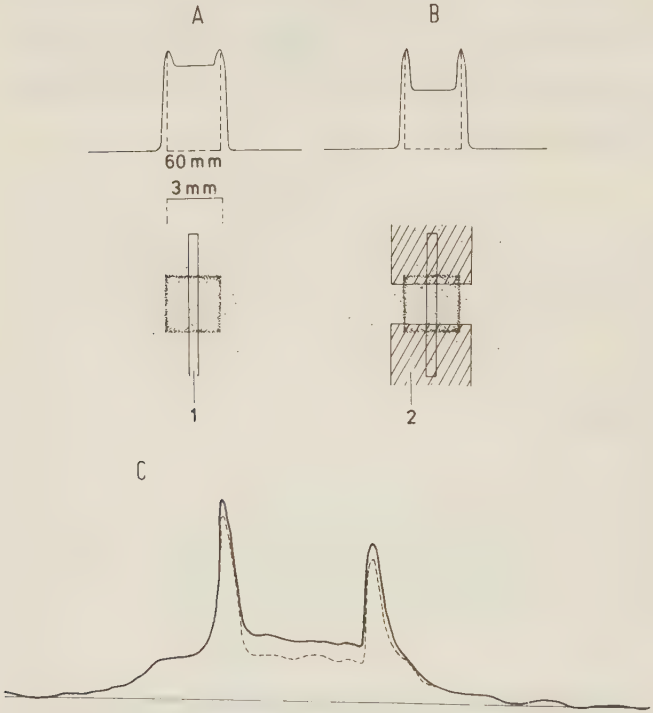


Abb.10, A: Fallenansammlung mit dem Meßfeld (1), das durch den Spalt im Meßkopf des Schwärzungsmessers begrenzt wird, und die entsprechende Schreiberkurve

10 , B: Die zusätzliche Begrenzung des Meßfeldes durch die Blende (2) im Objekttisch auf 2 mm Länge verhindert, daß die obere und untere randliche Ansammlung mitgemessen wird

10, C: Originalkurven einer Fallenansammlung (Fallenlicht: 434 nm, 840 pE . cm^{-2} . s^{-1}; Hintergrundlicht: RG 2, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}). Durchgezogene Linie: Messung wie in A, gestrichelte Linie: Messung wie in B. Die Basislinie (dünne durchgezogene Linie) auf dem Niveau der Extinktion des Fallenumfeldes ist zusätzlich eingezeichnet.

Die Fläche zwischen der Kurve und der Basislinie (s. Abb. 10) ist bei nicht zu starker Fallenansammlung ein proportionales Maß für die Ansammlungsdichte (Nultsch, 1962 b). Um Dichteänderungen in der engen Umgebung der Fallenansammlung meßtechnisch zu eliminieren, wurde jeweils nur die Fläche planimetrisch ausgemessen (Planimeter der Fa. Haff, Typ 315), die der Fläche der Lichtfalle (Kantenlänge 3 mm) entspricht, was unter den gewählten Bedingungen die Fläche über einer Basis von 60 mm ergibt (s. Abb. 10).

2.2.3 Versuche zur Bestimmung der Bewegungsgeschwindigkeit

Die Beweglichkeit von Porphyridium, vor allem im Zusammenhang mit Hemmstoff- und Entkopplerversuchen, wurde nach der von Nultsch (1962 a) entwickelten Methode untersucht. Auf die Oberfläche eines 0,3%igen NL-Agars (20 ml/Schale) wurden 4 bis 5 Tropfen von 0,03 ml einer 100fach konzentrierten Algensuspension (= 10^9 Zellen/ml) aufgetragen. Die Schalen wurden mit mattierten Deckeln abgedeckt und 7 Tage 2100 Lux

Weißlicht (Leuchtstoffröhren Osram-L, 40 W/30, Warmton) exponiert.

Der um den Impffleck entstandene Ausbreitungshof (Abb. 11) wurde in zentrifugaler Richtung viermal unter einem mit Meßokular versehenen Stereomikroskop (Wild, Heerbrugg, 12x) in relativen Einheiten ausgemessen. Der Mittelwert aus 16-20 Einzelmessungen pro Schale wurde in % der Kontrolle angegeben. Um eine schärfere Abgrenzung des Impfflecks gegen den Ausbreitungshof zu erzielen, wurde in einigen Versuchen der Algensuspension stark verdünnte Tusche (Rotring) zugegeben. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit wurde dadurch nur unwesentlich vermindert. Da die Tuschepartikel von den auswandernden Zellen nicht mitgeschleppt werden, konnte der Rand des Impffleckes exakt ermittelt werden. In Hemmstoffversuchen wurde der jeweilige Hemmstoff dem Agar bis zur gewünschten Endkonzentration beigemischt.

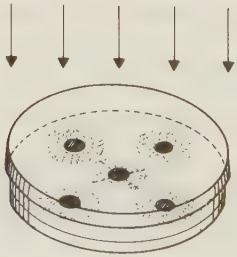


Abb. 11: Agarschale mit den um die Impfflecken entstandenen Ausbreitungshöfen. Der Petrischalendeckel ist mattiert. Homogenes Weißlicht wird von oben eingestrahlt.

2.2.4. Versuche zur Phototaxis

Versuche zur Phototaxis wurden nach der von Nultsch (1961) beschriebenen Methode durchgeführt. Hierfür wurden nach 2.2.3 vorbereitete NL-Agarschalen zentral beimpft. Die Platten wurden um 14° zur Lichtquelle hin geneigt, um eine gleichmäßige Bestrahlung des gesamten Impfflecks zu erzielen (Abb. 12). Blaues Licht (BG 12, Schott & Gen.) diente als Locklicht. Um die Beweglichkeit aller Zellen zu garantieren, wurde ein phototaktisch unwirksames Hintergrundlicht (Nultsch, pers. Mitt.) oberhalb 600 nm (Kantenfilter-Plexiglas, $Tr_{50\%}$: 630 nm) von oben eingestrahlt; Rotlicht hat sich in Versuchen von Nultsch und Dillenburger (Nultsch, 1974) als photokinetisch wirksam erwiesen.

Der von Nultsch verwendete Reaktionswert $R_t = \frac{S_1 - S_2}{S_1 + S_2}$ eignet sich für Porphyridium cruentum nicht, da S_2 immer sehr klein ist. Es wurde daher $S_1 - S_2$ in % der Kontrolle errechnet.

Der Nachteil der beschriebenen Methode besteht darin, daß:

1. die tatsächliche Beleuchtungsstärke der Platte dem Sinus des Neigungswinkels proportional ist. Das führt besonders bei geringem Neigungswinkel zu Meßproblemen,
2. die der Lichtquelle zugewandte Seite des Impfflecks stark beleuchtet wird, während die abgewandte Seite im Schatten liegt. Das kann bei solchen Organismen, bei denen vor allem die rand-

lichen Partien und nicht der gesamte Impffleck wie bei Anabaena wandert, zu erheblichen Verfälschungen führen.

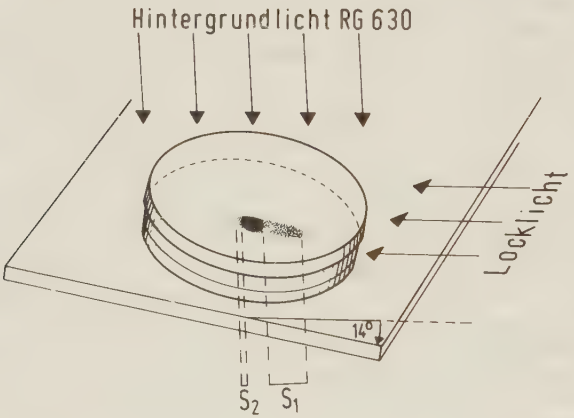


Abb. 12: Phototaxis von Porphyridium bei seitlicher Bestrahlung. Der Schalendeckel ist mattiert. Neigung der Petrischale: 14°. S_1 ist die Strecke, die vom Rand des Impfflecks in die Richtung zur Lichtquelle zurückgelegt wurde, S_2 ist die Strecke, die in der entgegengesetzten Richtung zurückgelegt wurde.

Es wurde daher nach einer Methode gesucht, bei der alle Zellen in den vollen Lichtgenuß kommen können. Das ist nur möglich, wenn die Zellen in einer dünnen Suspension von geringer Schichtdicke gleichmäßig verteilt sind. Bei der Suche half die Beobachtung weiter, daß sich die anfänglich homogen im Agar verteilten Algen bereits nach ein bis zwei Tagen an der Agaroberfläche ansammelten, wenn die Schale mit Weißlicht von oben bestrahlt wurde. Diese

Schalen erscheinen im Durchlicht dunkler als solche mit homogener Verteilung der Algen, weil der Anteil direkt transmittierten Lichts mit zunehmender Wanderung der Algen an die Agaroberfläche geringer wird, so daß bei engster Anordnung aller Zellen keine Strahlung ungebrochen, unreflektiert oder ohne Absorptionsverluste durch die Schale treten kann (Abb. 13). Die unterschiedlichen Transmissionsverluste der Schalen können mit Hilfe des Schwärzungsmessers bestimmt werden.

Diese neue Methode wurde bei der Untersuchung der DCMU-Abhängigkeit der Phototaxis angewendet (s. Kap. 5.1.6.). Als Locklicht diente Weißlicht ($1{,}5 \cdot 10^4$ lx), das von oben homogen eingestrahlt wurde. Die Versuche konnten nach 48 Stunden ausgemessen werden.

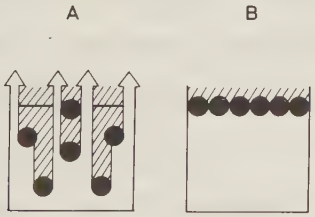


Abb. 13: Schematische Darstellung des Anteils des direkt transmittierten Lichtes (Pfeile) und des indirekt transmittierten Lichtes (schraffiert) nach Durchtritt durch eine Schale mit homogen verteilten Zellen (A) bzw. durch eine Schale mit dicht an der Agaroberfläche angeordneten Zellen (B)

Die Auswertung wurde ohne absolute Eichung in relativen Werten zwischen den beiden Extremwerten - Kontrolle ohne Locklicht = 0% und maximale Lockwirkung wie in Abb. 13B = 100% - vorgenommen.

2.2.5. Photosynthese-Messungen

Die polarographische O_2-Messung wurde am Oxygraphen (Gilson K-IC) mit temperaturkonstanter Küvette (Thermostat der Fa. Colora, 21° C; Magnetrührer: Micro-V der Fa. Cole-Parmer, ca. 800 rpm) durchgeführt. Für die Beleuchtung wurde ein Projektor (Prado der Fa. Leitz) verwendet, vor dessen Frontlinse eine Sammellinse (f = 55 mm) befestigt wurde, so daß die Küvette mit bis zu 3 . 10^7 erg . cm^{-2} . s^{-1} Rotlicht (RG 2) bestrahlt werden konnte. Die Algensuspension wurde auf eine Dichte von 2,5 . 10^7 Zellen/ml (= 15,0 µl pcv =packed cell volume) eingestellt und im Reagenzglas vor jedem Versuch 1/2 Stunde vorverdunkelt. Für Hemmstoffversuche wurde der doppelt konzentrierten Algensuspension 5 Minuten vor der ersten Messung das gleiche Volumen NL oder Hemmstoff-Lösung in NL beigemischt und so die endgültige Konzentration und Zellzahl eingestellt. Das Reaktionsgefäß wurde mit 1,8 ml Suspension beschickt und mit jeder Intensität, beginnend bei der niedrigsten, so lange bestrahlt, bis eine konstante O_2-Entwicklung gemessen wurde. Entsprechend wurde bei der anschließenden Messung des O_2-Ver-

brauchs im Dunkeln durch die Atmung verfahren. Die Steigung des Lichtwerts, gemessen als Tangens, vermindert um die Steigung des Dunkelwerts ergibt den Wert für die photosynthetische O_2-Produktion. Zwischen den einzelnen Messungen wurden die Algen unbegast im Reagenzröhrchen verdunkelt aufbewahrt. So konnten z.B. DCMU-abhängige Veränderungen der Pigmentzusammensetzung (s. Kap. 5.1.7.) ausgeschlossen werden. Außerdem wurde die Vermehrung der Algen während der Versuchsdauer unterdrückt.

3. WEISSLICHTVERSUCHE

Bei einheitlich reagierendem Ausgangsmaterial und identischen Temperatur- und Beleuchtungsverhältnissen ist die Dichte der Ansammlung in einer Lichtfalle abhängig

1. von der Viskosität des Mediums,
2. von der Dichte der Algensuspension,
3. von der Schichthöhe des Mediums.

3.1. Viskosität des Versuchsmediums

In Versuchen mit reiner Nährlösung zeigte sich, daß die Anheftung der Algen am Boden der Petrischale wellenlängenabhängig ist. Grünlicht führt zu schlechterer Anheftung als Dunkelheit, so daß sich im grünen Fallenlicht gebildete Ansammlungen beim Transport der Schale sofort ablösen und eine Fallenentleerung vortäuschen. Es wurde daher eine Verfestigung des Mediums notwendig. Als das geeignetste Medium erwies sich 0,3%iger NL-Agar. Die Schalen waren dann bei ausreichender Beweglichkeit der Algen gut zu transportieren und auszuwerten.

3.2. Dichte der Algensuspension

Zur Bestimmung der optimalen Zellzahl wurden Schalen mit jeweils 20 ml 0,3%igem NL-Agar und unterschiedlicher Zellzahl pro ml ausgegossen und 24 Stunden mit 4000 Lux Weißlicht als Fallenlicht bestrahlt.

Die Dichte der Ansammlung in der Lichtfalle nimmt zunächst mit steigender Zellzahl etwa linear zu und erreicht zwischen $2 \cdot 10^7$ und $3 \cdot 10^7$ Z/ml das Maximum (Abb. 14). Eine weitere Erhöhung der Zellzahl führt wegen der starken Selbstbeschattung und Lichtstreuung zu einer geringeren Helligkeit und Abbildungsschärfe der Falle vor allem in den oberen Agarschichten, so daß die Ansammlungsdichte eher ab- als zunimmt.

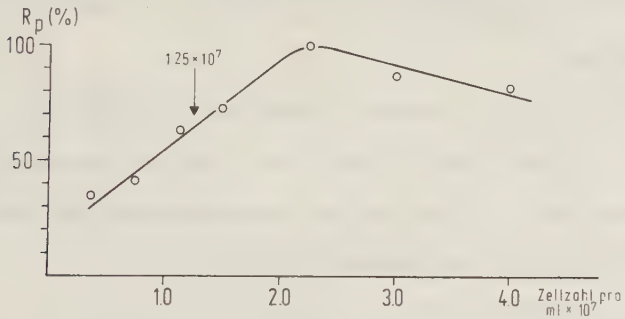


Abb. 14: Abhängigkeit der Ansammlungsdichte von der Zellzahl. Der Reaktionswert R_p ist in Prozent des Maximalwertes angegeben. Die Versuchsdauer beträgt 24 h, die Beleuchtungsstärke 4000 Lux.

Eine geringere Zellzahl als die im Maximum der Kurve erscheint aus folgenden Erwägungen vorteilhaft:

1. Je geringer die Zellzahl ist, desto weniger kann Streulicht andere Zellen phototaktisch anlocken.
2. Mit steigender Zellzahl verändert das eingestrahlte Fallenlicht zunehmend seine spektrale Zusammensetzung bei Weißlicht bzw. seine Helligkeit bei monochromatischem Licht entsprechend der spezifischen Eigenabsorption jeder Zelle. Dieser Filtereffekt kann sowohl durch die Pigmente des Photorezeptors selbst als auch durch unbeteiligte, im Bereich des Photorezeptors absorbierende Pigmente wirksam werden (Clayton, 1964).
3. Das Sättigungsniveau einer Photoakkumulation (Nultsch, 1962 b) wird bei hoher Zellzahl eher erreicht. Dabei wird die Differenz zwischen Hintergrunddichte und Fallendichte und damit die Signalhöhe geringer.

Daher wurde für alle folgenden Versuche eine Zellzahl von $1{,}25.10^7$ Zellen/ml gewählt, die in der Mitte des linearen Teils der Kurve (Abb. 14) liegt und noch zu gut auswertbaren Ansammlungen (ca. 65% des Maximalwerts) führt.

3.3 Schichthöhe des Agars

Mit zunehmender Schichthöhe des Agars nimmt die Intensität des Fallenlichts durch Absorptions- und Streulichtverluste ab.

Gleichzeitig werden die Ränder der Lichtfalle immer unschärfer (Tafel 1.2).

In allen folgenden Versuchen wurde daher mit einer Füllmenge von 15 ml/Schale gearbeitet, was einer Schichtdicke von 2,64 mm (errechnet) entspricht.

Die Abhängigkeit des Transmissionsverlustes von der Schichtdicke und der Zellzahl/ml Agar kann experimentell leicht bestimmt werden, indem eine keilförmige Küvette mit gleichmäßig im Agar verteilten Algenzellen gefüllt und die Extinktion der linear zunehmenden Schichtdicke kontinuierlich mit dem Schwärzungsmesser gemessen wird (Abb. 15). Bei einer Zellzahl von $1{,}25 \cdot 10^7$ Z/ml ändert sich die Extinktion bis zu einer Einfüllhöhe von 4–5 mm proportional zur Schichtdicke.

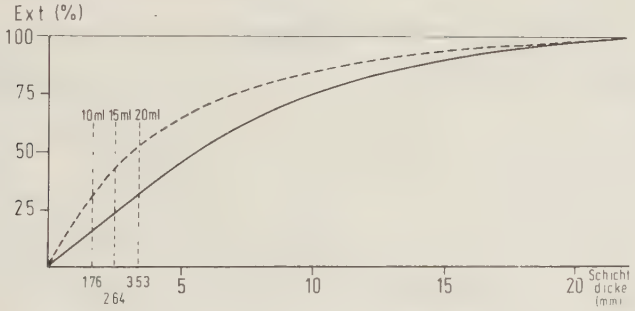


Abb. 15: Extinktionsveränderung bei linear steigender Schichtdicke. Durchgezogene Linie: $1{,}25.10^7$ Z/ml Agar, gestrichelte Linie: $2{,}25.10^7$ Z/ml Agar.

3.4. Kinetik der Photoakkumulation

Die Zunahme der Fallendichte wurde bei verschiedenen Weißlicht-intensitäten 9 Tage lang verfolgt. Bei 50 000 und 35 000 Lux trockneten allerdings die Schalen aus, so daß diese Versuche nicht weitergeführt werden konnten.

Die aufgetragenen Akkumulationskinetiken (Abb. 16) zeigen für alle untersuchten Intensitäten zunächst eine Phase des linearen Anstiegs. Diese Phase dauert bei den höchsten verwendeten Intensitäten zwischen 20 000 und 50 000 Lux nur 2 Tage. Sie wird bei niedriger Intensität länger (bei 2000 Lux 3 Tage, bei 1000 7 Tage) und ist bei 500 Lux nach 9 Tagen noch nicht abgeschlossen.

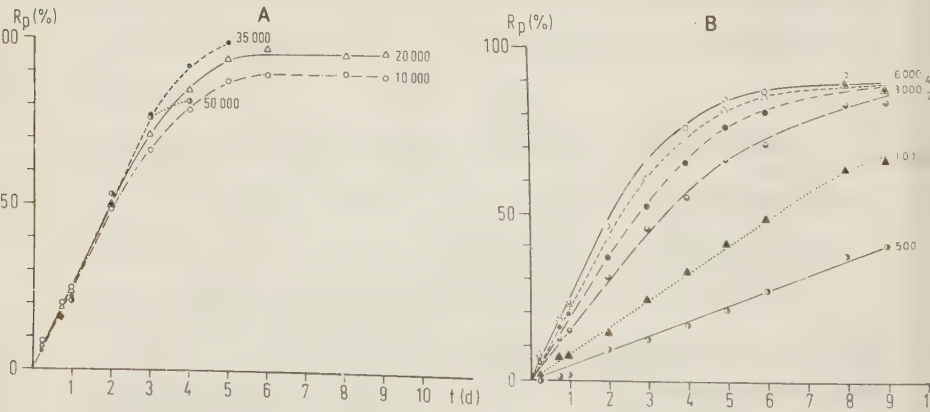


Abb. 16A,B:Kinetiken der Photoakkumulation von Porphyridium in Weißlicht bei verschiedenen Fallenlicht-Intensitäten. Abszisse: Versuchsdauer in Tagen; Ordinate: Reaktionswert in Prozent des Maximalwerts

Wird die Steigung eines jeden linearen Kurvenabschnittes als Tangens gegen den Logarithmus der Intensität aufgetragen (Abb. 17), so zeigt sich, daß zwischen 500 und 5000 Lux tg proportional mit log I wächst, ab 6000 Lux aber auf ein Sättigungsniveau einbiegt, so daß bei Einstrahlung von 20 000 Lux und mehr kein steilerer Anstieg der Reaktionskinetiken zu erzeugen ist. Da sich alle Reaktionskinetiken nach 48 Stunden noch in der Phase des linearen Anstiegs befinden und weiterhin nach 2 Tagen auch bei sehr niedrigen Intensitäten ausreichend gut meßbare Reaktionen erhalten werden, wurde diese Expositionszeit allen folgenden Versuchen zugrunde gelegt.

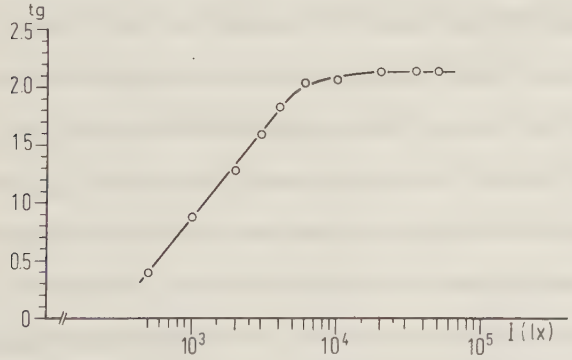


Abb. 17: Steigung der Akkumulationskinetiken aus Abb. 16 als Tangens bei verschiedenen Weißlichtintensitäten. Abszisse (log): Intensität des Fallenlichts in Lux; Ordinate: Tangens des Steigungswinkels

3.5. Dosis-Effekt-Abhängigkeit

Die Wirkung der Fallenlichtintensität auf die Photoakkumulation wurde nach verschieden langer Versuchsdauer untersucht (Abb. 18). Hierbei zeigt sich, daß alle Dosis-Effekt-Kurven zwei Abschnitte mit unterschiedlicher Steigung besitzen. Im ersten Abschnitt, der im Bereich niedriger Intensitäten (bis $2 \cdot 10^3$ - $5 \cdot 10^3$ Lux) liegt, steigen alle Dosis-Effekt-Kurven bei halblogarithmischer Darstellung linear an. Die Anstiegssteilheit verändert sich bei Versuchszeiten von vier und mehr Tagen nur unwesentlich. Im zweiten Kurvenabschnitt (oberhalb von $3 \cdot 10^3$ - $6 \cdot 10^3$ Lux) wird die Ansammlungsdichte nach Versuchszeiten bis zu 24 Stunden mit zunehmender Intensität des Fallenlichts schwächer, so daß die Dosis-Effekt-Kurven dem Typ einer Optimumskurve entsprechen. Werden die Schalen 2 Tage bestrahlt, so verändert sich die Ansammlungsdichte zwischen Intensitäten von 10^4 und $5 \cdot 10^4$ Lux nur geringfügig, so daß die Kurve den Charakter einer Sättigungskurve besitzt. Bei längeren Expositionszeiten nimmt die Fallendichte im Bereich hoher Intensitäten zu, so lange die Bewegungsgeschwindigkeit durch hohen Wasserverlust des Agars nicht vermindert wird wie in den nach acht und neun Tagen ermittelten Dosis-Effekt-Kurven.

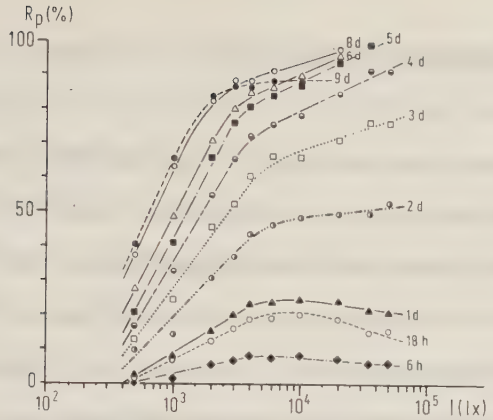


Abb. 18: Dosis-Effekt-Kurven der phobischen Reaktion von Porphyridium in Weißlicht.
Abszisse (log): Lichtintensität in Lux; Ordinate: Reaktionswert der phobischen Reaktion in % des Maximalwertes

Die Tatsache, daß die Dosis-Effekt-Kurven im Bereich höherer Intensitäten sehr unterschiedlich verlaufen, läßt vermuten, daß im Starklicht die Fallenansammlungen nicht mehr ausschließlich das Resultat phobischer Reaktionen sind, sondern von anderen lichtabhängigen Reaktionen überlagert werden.

Die phobischen Reaktionen von Einzelzellen wurde bei einer Intensität von 6500 Lux (in der Objektebene mit der PIN-Diode gemessen) mikroskopisch beobachtet (Zeiss Standard, 800 x). Die Bewegungen der Zellen wurden mit Hilfe eines Zeichenapparates (Zeiss) nachgezeichnet (Tafel 1.3). Während die aus dem abgedunkelten in das beleuchtete Feld wandernden Zellen ihre Bahn geradlinig fortsetzen (Tafel 1.3.f), verlangsamen die in umgekehrter Richtung wandernden Zellen ihre Bewegungsgeschwindigkeit und ändern z.T. mehrfach die Bewegungsrichtung.

4. VERSUCHE MIT MONOCHROMATISCHEM LICHT

Der Verlauf von Aktionsspektren erlaubt unter bestimmten Voraussetzungen Rückschlüsse auf den (oder die) für die Reaktion verantwortlichen Photorezeptor(en). Eine der wichtigsten Voraussetzungen ist die Proportionalität zwischen den Dosis-Effekt-Kurven bei verschiedenen Wellenlängen (Duysens, 1970). Daher sollten alle Aktionsspektren aus Dosis-Effekt-Kurven in der Weise ermittelt werden, daß die für einen als konstant gesetzten Reaktionswert notwendige Quantenzahl ermittelt und die relative Quantenwirksamkeit gegen die Wellenlänge aufgetragen wird. Da die Wirksamkeit des eingestrahlten Lichtes von der Anzahl der absorbierten Quanten und nicht von seiner Energie abhängt, muß beim Vergleich monochromatischer Strahlung auf Quantengleichheit umgerechnet werden. Bei vielen in der Literatur beschriebenen "Aktionsspektren" sind diese Gesichtspunkte nicht berücksichtigt worden. Sie besitzen daher nur beschränkte Aussagekraft.

4.1. Einfluß von monochromatischem Licht auf die Pigmentzusammensetzung und die Zellvermehrung

Bei Einstrahlung von Farblicht in eine Rotalgensuspension muß bei langfristigen Versuchen mit Pigmentveränderungen gerechnet werden,

die als chromatische Adaptation bezeichnet werden. In der Literatur hat sich seit den ersten Farblichtversuchen von Oltmanns (1892) keine einheitliche Ansicht über die adaptiven Fähigkeiten von Rotalgen gebildet. Gaidukov (1906) beschreibt bei Porphyra eine komplementäre Adaptation. Yocum und Blinks (1957), Koch (1953), Döhler et al. (1976) finden zwar Pigmentveränderungen nach Kultur im Farblicht, jedoch nicht im Sinne einer komplementären Adaptation. Hoarau und Leclerc (1973); Leclerc et al. (1975) beschreiben bei Porphyridium sp. gegenkomplementäre Adaptation, und Brody und Emerson (1959) unterscheiden bei Porphyridium cruentum eine komplementäre Adaptation in schwachem Farblicht (10^2 erg . cm^{-2}. s^{-1}) und gegenkomplementäre im starkem Farblicht (10^4 erg . cm^{-2} . s^{-1}). Offensichtlich sind die einander z.T. widersprechenden Ergebnisse auf die unterschiedliche Intensität des verwendeten Farblichts zurückzuführen.

Die chromatische Adaptation kann in Lichtfallenexperimenten dazu führen, daß sich die Pigmentzusammensetzung bei den Algen, die sich in der Lichtfalle befinden, so stark ändert, daß das Signal des Schwärzungsmessers dadurch verfälscht wird.

Eine weitere Fehlerquelle kann dadurch entstehen, daß sich die Algen in dem eingestrahlten Lichtfeld in Abhängigkeit von Intensität und Wellenlänge schneller oder langsamer als im Umfeld vermehren. Die Kontrolle ob und in welchem Umfang ein

solcher "Vermehrungsartefakt" auftritt, ist auch in Hinblick auf die umstrittene Rotlichtwirksamkeit von besonderer Bedeutung.

Zur Klärung beider Fragen wurden Versuchsschalen von oben homogen mit monochromatischem Licht (Quantenstromdichte: 560 pE . cm^{-2} . s^{-1}) bestrahlt. Nach 2 Tagen wurde für jede Schale das Absorptionsspektrum gegen eine Versuchsschale ohne Alge gemessen. Abb. 19 zeigt einige der so erhaltenen Absorptionskurven für verschiedene Bestrahlungswellenlängen und die Dunkelkontrolle.

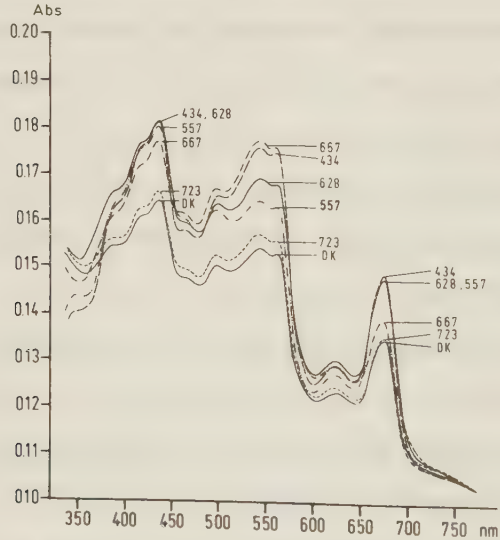


Abb. 19: Absorptionsspektren von Versuchsschalen mit homogen im Agar verteilten Algen ($1{,}25.10^7$ Z/ml) nach 48 Stunden Bestrahlung mit monochromatischen Licht (560 pE . cm^{-2} . s^{-1}) der angegebenen Wellenlängen. DK = Dunkelkontrolle

Im Dunkeln gehaltene Algen zeigen generell die schwächste Pigmentierung. Rotlichtbestrahlung (668 nm) bewirkt eine Verminderung der Absorption in der blauen und roten Absorptionsbande des Chlorophylls im Vergleich zu Grünlicht bestrahlten Zellen. Im Absorptionsbereich des Phycoerythrins und Phycocyanins verhält es sich umgekehrt.

Oberhalb von 740 nm ist bei Porphyridium nur geringe Absorption festzustellen, die, wie Doucha und Kubin (1976) in Messungen gegen gebleichte Zellen beweisen, nicht auf Pigmentabsorption zurückzuführen ist. Da im Dunkeln, ebenso im Weißlicht unter 150 Lux (Koch, 1953) kein Wachstum stattfindet, darf das Zusammentreffen aller Kurven im nahen IR als Beleg dafür angesehen werden, daß Zellteilungen im Agar der Versuchsschalen während der zweitägigen Belichtung in nennenswertem Maß nicht stattfinden. Eine Verfälschung von Photoakkumulationen durch Zellvermehrung kann also für alle verwendeten Wellenlängen ausgeschlossen werden.

Die chromatischen Veränderungen sind, wie ein Vergleich der Absorptionsspektren zeigt, nicht komplementär, sondern gegenkomplementär: der rote Farbton der Zellen (durch Phycoerythrinabsorption im Grünbereich) wird nicht durch Bestrahlung mit Grün-, sondern mit Rotlicht gesteigert. Umgekehrt wird der Chlorophyllgehalt der Zellen besonders durch Grünlichteinstrahlung erhöht.

Genauer läßt sich die unterschiedliche Wirkung der verschiedenen Spektralbereiche auf die Pigmentausstattung darstellen, wenn die Absorption der Versuchsschalen bei Wellenlängen, die für den Gehalt an PE bzw. Chlorophyll repräsentativ sind, gegen die Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes (560 pE . cm^{-2} . s^{-1}) aufgetragen wird (Abb. 20). Die dargestellten Spektren lassen erkennen, daß die Phycoerythrinbildung nicht nur durch Rotlicht oberhalb von 650 nm, sondern auch durch Wellenlängen zwischen 400 nm und 500 nm stark gefördert wird, während sich im Bereich der Phycoerythrinabsorption ein Minimum befindet. Der Chlorophyllgehalt , von dem die Absorption bei 676 nm wesentlich bestimmt wird, ist nach Bestrahlung mit Rotlicht oberhalb von 650 nm relativ niedrig. Er wird durch Licht, das von den Phycobilinen absorbiert wird, deutlich gesteigert. Als besonders wirksam erweist sich wiederum der Bereich zwischen 400 nm und 520 nm.

Die in Abb. 20 dargestellten Spektren zeigen keine Übereinstimmung mit den bei Blaualgen (Diakoff and Scheibe, 1973; 1975; Vogelmann and Scheibe, 1977; Fujita and Hattori, 1962; 1963) und bei Cyanidium als der bisher einzigen untersuchten Rotalge (Nichols and Bogorad, 1962) ermittelten Aktionsspektren der chromatischen Adaptation. Offensichtlich kommen bei Porphyridium nicht die gleichen Photorezeptorpigmente (phytochromartige Biliproteine bzw. Haemproteine) in Frage, sondern möglicherweise Photosynthesepigmente. Genauere Aussagen können allerdings erst auf-

grund von Aktionsspektren getroffen werden, die anhand von Dosis-Effekt-Kurven ermittelt werden.

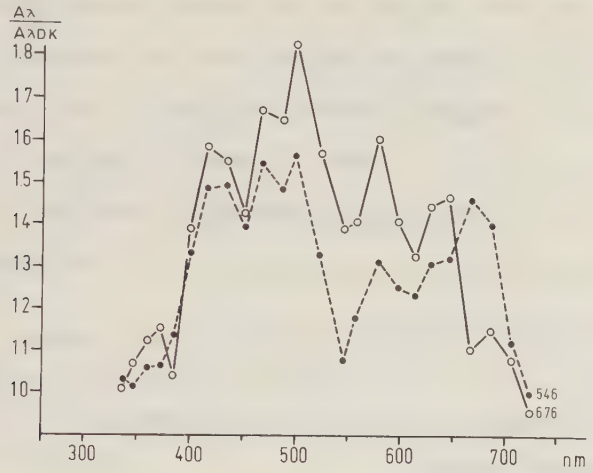


Abb. 20:
Spektrale Wirksamkeit von Licht gleicher Quantenstromdichte (560 pE . cm^{-2} . s^{-1}) auf die Absorption von Porphyridium im Bereich des Phycoerythrins (546 nm) und des Chlorophylls (676 nm) nach einer Bestrahlungsdauer von 48 Stunden.
Abszisse: Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes in nm; Ordinate: Verhältnis der Absorption der Proben zu der der Dunkelkontrolle bei 546 nm bzw. 676 nm

Die in den vorliegenden Versuchen beobachtete gegenkomplementäre Adaptation tritt bereits bei einer Quantenstromdichte auf, die ungefähr um eine Zehnerpotenz niedriger liegt als in den Versuchen von Brody und Emerson (1959) und Hoarau und Leclerc (1973). Da jedoch die Algen in einer ca. zehnfach dünneren Schicht be-

strahlt wurden, liegt der durchschnittliche Lichtgenuß der Zellen ungefähr in der selben Größenordnung.
Die Versuche haben gezeigt, daß in Lichtfallenversuchen eine Verfälschung der Meßergebnisse nicht durch Zellvermehrung, wohl aber durch Pigmentveränderungen möglich ist. Um diesen Fehler zu eliminieren, wurde in den Meßstrahl des Schwärzungsmessers ein RG N 9-Farbglas als Sperrfilter eingeschoben (s. Abb. 7), durch das das Licht unterhalb von 700 nm nahezu vollständig herausgefiltert wird (s. Abb. 8).

4.2. Dosis-Effekt-Kurven und Aktionsspektrum der Photoakkumulation

Für Wellenlängen zwischen 336 nm und 734 nm (mittlerer Abstand 11 nm) wurde die Dosis-Effekt-Abhängigkeit bei 280, 420, 560 pE . cm^{-2} . s^{-1} bestimmt. Zwischen 280 pE . cm^{-2} . s^{-1} und 560 pE . cm^{-2} . s^{-1} besteht für alle Kurven eine Proportionalität zwischen Intensität und Ansammlungsdichte (Abb. 21). Es fällt jedoch auf, daß im UV- und Blaulichtbereich einige Kurven (z.B. 336 nm, 340 nm, 360 nm, 452 nm, 503 nm) eine andere Steigung besitzen, als nach der Höhe bei 280 pE . cm^{-2} . s^{-1} zu erwarten ist. Wellenlängen oberhalb 700 nm führen zu Fallenentleerungen. Die Kurven für die spektrale Wirksamkeit bei den drei angegebenen Quantenstromdichten verlaufen gleichartig (Abb. 22).

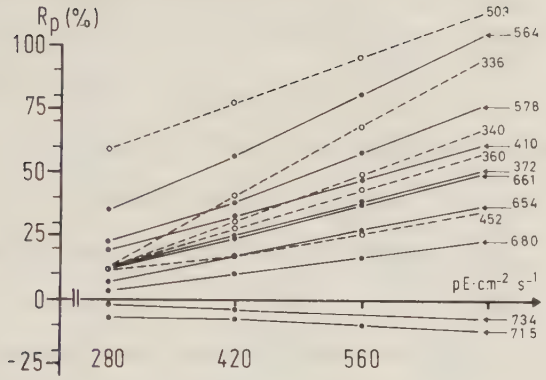


Abb. 21: Dosis-Effekt-Kurven für die Photoakkumulation bei verschiedenen Wellenlängen (Auswahl). Abszisse: Quantenstromdichte des Fallenlichts; Ordinate: Reaktionswert in Prozent des Maximalwerts

Sie unterscheiden sich von dem aus den Dosis-Effekt-Kurven ermittelten Aktionsspektrum (Abb. 23) nur in der relativen Höhe der Maxima. Das Hauptmaximum ist um wenige nm verschoben. Im Vergleich mit dem Absorptionsspektrum ist das Aktionsspektrum durch folgende Unterschiede gekennzeichnet:

1. Während Licht der Wellenlänge um 500 nm die stärkste Wirksamkeit zeigt, findet sich an dieser Stelle im Absorptionsspektrum nur eine schwach ausgeprägte Schulter.
2. Licht, das von Phycoerythrin am stärksten absorbiert wird (zwischen 520 nm - 570 nm), ist um fast 40 % weniger wirksam als das von 500 nm.

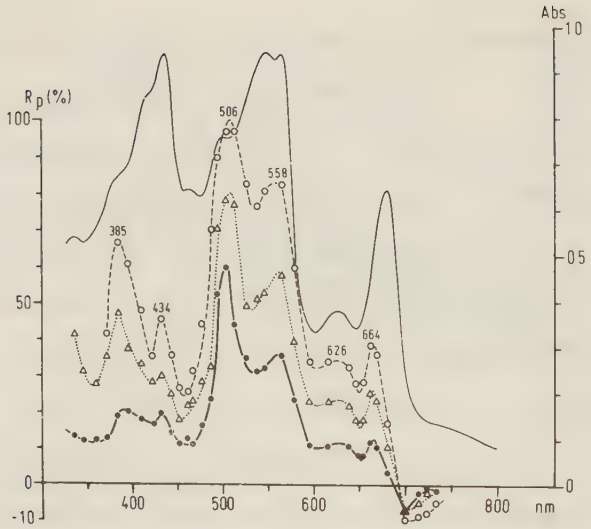


Abb.22 :Wellenlängenabhängigkeit der Photoakkumulation bei 280 pE . cm^{-2} . s^{-1} (durchgezogene Kurve mit gefüllten Kreisen), 420 pE . cm^{-2} . s^{-1} (gepunktete Linie mit Dreiecken) und 560 pE . cm^{-2} . s^{-1} (gestrichelte Linie mit offenen Kreisen) Absorptionsspektrum ganzer Zellen (durchgezogene dünne Linie). Abszisse: Wellenlängen in nm; Ordinate: Reaktionswert in Prozent des Maximalwertes bzw. Absorption

3. Dem flachen Gipfel bei 626 nm entspricht ein deutlich ausgeprägter peak im Absorptionsspektrum. In diesem Bereich liegt die Hauptabsorption des Phycocyanins. Allerdings muß auch eine Bande des Chlorophylls mit in Betracht gezogen werden.
4. Im Rotlichtbereich befindet sich ein distinktes Nebenmaximum bei 664 nm. Das Absorptionsmaximum des Chlorophyll a liegt in vivo bei 678 nm. Eine Verschiebung der Chlorophyllwirksam-

keit gegenüber seiner Absorption zu kürzeren Wellenlängen läßt sich auch den von Nultsch (1962b) und Häder (1973) vorgelegten Daten für Phormidium entnehmen.

5. Der Soretbande des Chlorophylls entspricht ein Nebengipfel bei 434 nm. Die Höhe dieses Gipfels ist deutlich geringer als nach dem Absorptionsspektrum zu erwarten ist.
6. Im UV zeigt sich bei 385 nm ein deutlicher Gipfel. Bei dieser Wellenlänge findet sich im Absorptionsspektrum eine schwach ausgeprägte Schulter.
7. Oberhalb von 690 nm treten Fallenentleerungen auf, am stärksten bei 720 nm. Licht der Wellenlänge 690 nm führt hingegen zu keiner meßbaren Reaktion.

Der auffällige Verlauf einiger Dosis-Effekt-Kurven im UV- bis Blaugrünbereich (Abb. 21: gestrichelte Kurven) könnte dafür sprechen, daß die phobische Reaktion hier überlagert wird von einer zweiten Photoreaktion, deren Rezeptor im kurzwelligen Spektralbereich absorbiert. Es ist hierbei vor allem an die Phototaxis zu denken, für die sich bei vielen Eukaryonten der Bereich zwischen 450 nm - 550 nm als der wirksamste erwiesen hat. Eine Übersicht über die ältere Literatur findet sich bei Mast (1920), über die neuere Literatur bei Nultsch (1975).

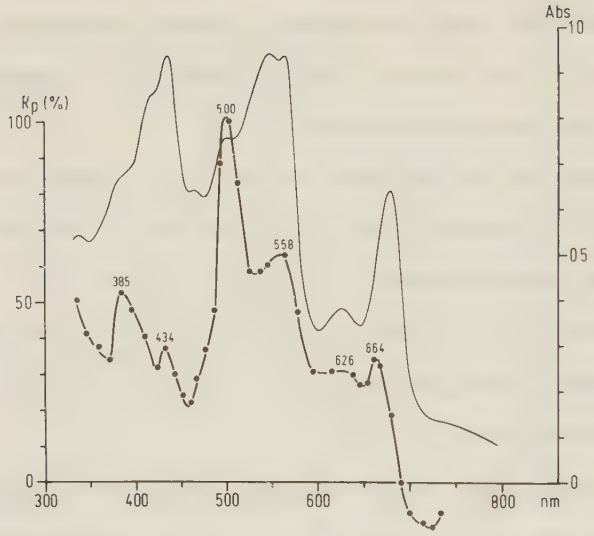


Abb. 23: Absorptionsspektrum (dünne Linie) und Aktionsspektrum der Photoakkumulation (Punkte und dicke Linie) von Porphyridium Abszisse: Wellenlänge in nm; Ordinate: relative Quantenwirksamkeit in Prozent des Maximalwertes bzw. Absorption

Einer Überprüfung bedarf das aufgestellte Aktionsspektrum auch deshalb, weil die Beweglichkeit der Algenzellen im dunklen Fallenumfeld rasch aufhört und ein "motility artefact" (Clayton, 1964) leicht auftreten kann, der zu photokinetischen Fallenentleerungen führt.

Um photokinetische und phototaktische Überlagerungen der phobischen Reaktion auszuschließen, hat sich die von Nultsch und Häder (1970) und Häder (1973) entwickelte Doppelbestrahlungstechnik bewährt, bei der die Versuchsschalen zusätzlich zum

Fallenlicht von oben mit einem Hintergrundlicht bestrahlt werden. Mit dieser Methode soll versucht werden, ein Aktionsspektrum der Photoakkumulation zu erhalten, das allein auf der spektralen Abhängigkeit der phobischen Reaktion beruht.

4.3. Doppelbelichtung mit rotem Hintergrundlicht

Wenn in Lichtfallenversuchen photokinetisch bedingte Verfälschungen der photophobischen Reaktionswerte ausgeschlossen werden sollen, so ist es wünschenswert, ein Hintergrundlicht zu verwenden, das zwar gute Beweglichkeit der Organismen garantiert, aber die Ansammlungsdichte in einer Lichtfalle nicht vermindert, weil es selbst phobisch unwirksam ist. Es kommt hierfür besonders der Bereich oberhalb 700 nm in Frage, bei dem viele Organismen - auch Porphyridium - eine unerwartet starke Photokinese und nur geringe oder keine phobische Aktivität aufweisen (Übersicht über die Aktionsspektren der Photokinese und Phobotaxis bei Nultsch, 1975).

Da entsprechende Filter nicht zur Verfügung standen, wurde das Kantenfilter RG 2 (Schott & Gen.) gewählt, das Licht unter 600 nm nahezu vollständig absorbiert (Abb. 8) und somit wenigstens z.T. den oben gestellten Anforderungen entspricht.

Eine diffuse Bestrahlung mit 500 erg . cm^{-2} . s^{-1} erwies sich in Vorversuchen als geeignete Intensität des Hintergrundlichtes, bei der die phobischen Reaktionen in einer roten Lichtfalle nicht wesentlich beeinträchtigt wurden.

In dem nach Dosis-Effekt-Kurven (Abb. 24) aufgestelltem Aktionsspektrum (Abb. 25), liegt das Maximum wiederum zwischen 500 und 520 nm. Wie in dem Aktionsspektrum ohne Hintergrundlicht ist demgegenüber der vom Phycoerythrin vornehmlich absorbierte grüne Spektralbereich schwächer wirksam. Die durch die Rotlichtbestrahlung des Fallenumfelds bewirkten entscheidenden Veränderungen betreffen den blauen und den langwelligen Rotbereich.

Im Vergleich mit dem Aktionsspektrum ohne Hintergrundbeleuchtung (Abb. 23) ist der Bereich zwischen 600 nm und 700 nm weniger wirksam, weil das rote Hintergrundlicht den Intensitätsunterschied zwischen Lichtfalle und Fallenumfeld verringert. Hiervon ist der Gipfel bei 664 nm stärker betroffen als der bei 626 nm. Offensichtlich ist das Chlorophyll für die Maxima bei diesen Wellenlängen nicht in gleichem Maße verantwortlich. Die Wirksamkeit bei 626 nm ist demnach überwiegend dem Phycocyanin zuzuschreiben.

Die wesentliche Veränderung erfährt das Aktionsspektrum bei Wellenlängen oberhalb von 695 nm. Fallenentleerungen sind selbst bei Verwendung hoher Energien (bis 3,9 nE . cm^{-2} . s^{-1}) nicht nachzuweisen.

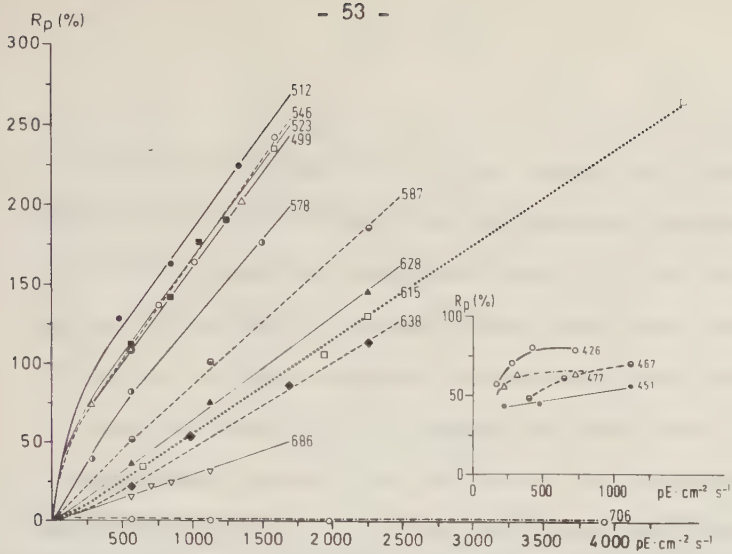


Abb. 24: Dosis-Effekt-Kurven für die Photoakkumulation bei konstantem Hintergrundlicht (RG_2, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}) für verschiedene Wellenlängen (Auswahl). Ordinate: Reaktionswert in Prozent der Kontrolle (Falle: 557 nm, 560 pE . cm^{-2} . s^{-1}, Hintergrund RG 2, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}).

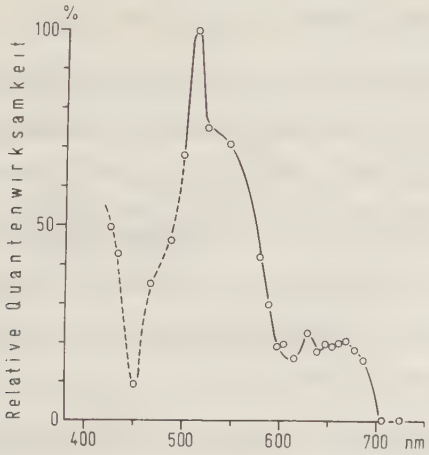


Abb. 25: Aktionsspektrum der Photoakkumulation bei roter Hintergrundbeleuchtung (RG 2, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}). Abszisse: Wellenlänge in nm; Ordinate: relative Quantenwirksamkeit in Prozent des Maximalwertes. Der gestrichelte Teil der Kurve ist nicht ausreichend abgesichert.

Daraus folgt:

1. Porphyridium cruentum verhält sich anders als die Blaualge Phormidium uncinatum, die bei Hintergrundwellenlängen zwischen 340 nm und 780 nm immer dann Fallenentleerungen ausbildet, wenn für die Lichtfallen Wellenlängen gewählt werden, die weit genug im langwelligen Bereich (zwischen ca. 675 nm und ca. 790 nm) liegen (Häder and Nultsch, 1973). Es konnte im Gegenteil bei Versuchen mit Fallenlicht von 723 nm und photokinetisch gut wirksamem Hintergrundlicht von 553 nm Photoakkumulationen nachgewiesen werden, wenn die Fallenintensität 11,2 nE . cm^{-2} . s^{-1} oder mehr betrug. Wenn diese Ansammlungen auch im wesentlichen auf das vom Interferenzfilter noch durchgelassene Licht unter 700 nm (0,1 % bei 690 nm; 0,25% bei 700 nm; 0,5 % bei 705 nm) zurückgeführt werden muß (Abb. 26), so wird doch belegt, daß Porphyridium cruentum in rotem und infrarotem Fallenlicht keine phobische Reaktion durchführt, die zu einer Fallenentleerung beim Verlassen des Lichtfeldes führt.
2. Die Entleerungen des Lichtfeldes bei langwelligem Fallenlicht und dunklem Umfeld sind nicht durch phobische Reaktionen beim Eintritt in die Lichtfalle, sondern durch positive Photokinese entstanden.
3. Rotlichtbestrahlung des Fallenumfelds von 500 erg . cm^{-2} . s^{-1} hebt diesen "motility artefact" auf. Sie erweist sich somit als ausreichend, um eine photokinetische Überlagerung der Photoakkumulation zu beseitigen.

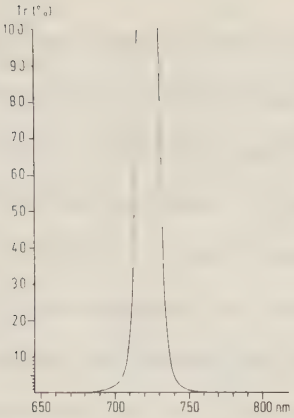


Abb. 26: Transmissionsspektrum (Ausschnitt) des Interferenz-Linienfilters IL 723. Transmissionsmaximum bei 723 nm: 36 %

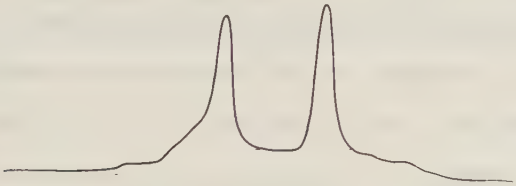


Abb. 27: Schwärzungsmesser-Kurve einer Fallenansammlung mit Hofbildung und starkem Randeffekt (Fallenlicht: 426 nm, 560 pE . cm^{-2} . s^{-1}; Hintergrundlicht: RG 2, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}). Für die Bestimmung des Randeffekts wird die Fläche zwischen Kurve und gestrichelter Linie ausgemessen.

Bei Verwendung von blauem Fallenlicht sind die Fallenbilder im Agar von einer sehr viel stärkeren, randscharfen Ansammlung begrenzt ("Randeffekt") als die entsprechenden Photoakkumulationen ohne Hintergrundbestrahlung. Im weiteren Umfeld der Falle sind außerdem besonders deutliche Hofbildungen erkennbar (s. Tafel 1.4).

Bei den zugehörigen Kurven der Dichtemessung (Abb. 27) lassen sich die Basislinien nur schwer festlegen. Aus diesem Grund muß der Abschnitt des Aktionsspektrum unter 500 nm als nicht ausreichend abgesichert bezeichnet werden, zumal die Dosis-Effekt-Kurven keinen linearen Verlauf aufweisen (Abb. 24). Die Überlagerung der Photoakkumulation durch andere lichtgesteuerte Reaktionen im UV- bis blaugrünen Spektralbereich, die auch mit der Einstrahlmethode festgestellt wurde, ist durch das rote Hintergrundlicht eher stärker geworden. Die Ursache hierfür liegt in der besseren Beweglichkeit der Algen im Fallenumfeld.
Um eine Verfälschung der Meßergebnisse durch den Randeffekt und die Hofbildung zu vermeiden, soll im folgenden untersucht werden, ob durch geeignete Wahl des Hintergrundlichtes beide Effekte beseitigt werden können.

4.4. Randeffekt

Der Randeffekt tritt bei rotem Hintergrundlicht (RG 2, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}) dann auf, wenn in die Lichtfalle Wellenlängen unterhalb von 590 nm eingestrahlt werden. Je kürzer die Wellenlänge des eingestrahlten Lichtes (bei einer Quantenstromdichte von 560 pE . cm^{-2} . s^{-1} bzw. 1250 pE . cm^{-2} . s^{-1}) ist, desto stärker wird der Randeffekt (Abb. 28).

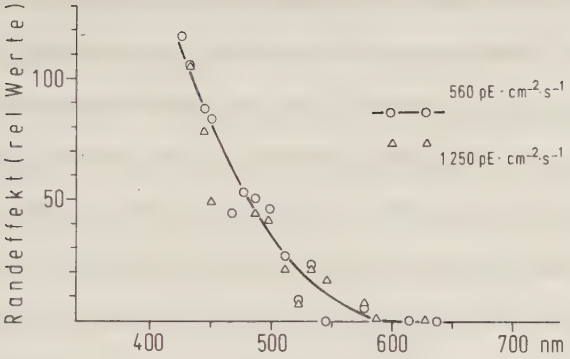


Abb. 28 :Abhängigkeit des Randeffektes von der Wellenlänge des Fallenlichtes (560 pE . cm^{-2} . s^{-1} und 1320 pE . cm^{-2} . s^{-1}) bei konstantem Hintergrundlicht (RG 2, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}). Abszisse: Wellenlänge in nm; Ordinate: Höhe des Randeffekts in relativen Werten

Da sehr starke Randeffekte bei einem Fallenlicht von 434 nm entstehen, wurde diese Wellenlänge bei Versuchen mit konstanter Lichtfalle (1250 pE . cm^{-2} . s^{-1}) und verschiedenen Hintergrundlicht-Wellenlängen (110 pE . cm^{-2} . s^{-1}) verwendet. Bei der Auswertung wurden nur die Flächen planimetrisch gemessen, die über das durch die Fallendichte gegebene Niveau hinausreichen (s. Abb. 27).

Der Randeffekt wird nur dann ausgebildet, wenn in den Hintergrund Wellenlängen von 500 nm bis 700 nm eingestrahlt werden. Das Reaktionsmaximum liegt bei 600 nm (Abb. 29).

Der Vergleich der in Abb. 28 und Abb.29 dargestellten Spektren zeigt, daß die Ausbildung des Randeffektes über zwei verschiedene Photorezeptoren gesteuert wird, von denen einer um 600 nm optimal arbeitet, der zweite unterhalb von 600 nm erst wirksam wird und zum kurzwelligen Blau (gemessen bis 424 nm) ständig zunimmt. Nur wenn in die Falle Blaulicht und in das Umfeld Grün- bis Rotlicht eingestrahlt werden, kann sich ein Randeffekt ausbilden.

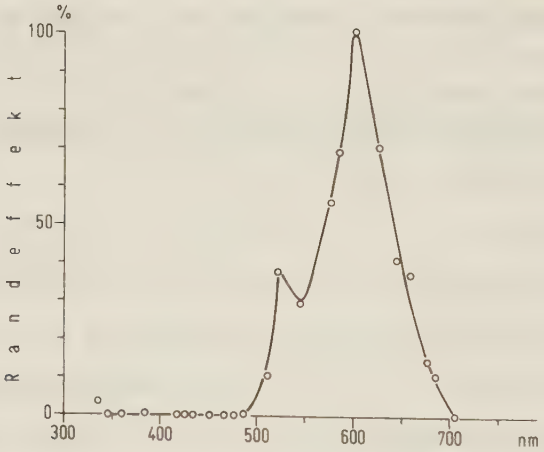


Abb. 29: Abhängigkeit des Randeffektes von der Wellenlänge des Hintergrundlichtes (110 pE . cm^{-2} . s^{-1}) und konstantem Fallenlicht (434 nm, 1250 pE . cm^{-2} . s^{-1}). Abszisse: Wellenlänge in nm; Ordinate: Stärke des Randeffektes in Prozent des Maximalwertes

Aus dem Verlauf der beiden Spektren kann über die Natur der Photorezeptoren keine eindeutige Klarheit gewonnen werden. Mit einiger Sicherheit scheiden aber für den "Blaulichtrezeptor" direkt an der Photosynthese beteiligte Pigmente aus.
Es ist weiterhin unwahrscheinlich, daß Phycocyanin für den zwischen blaugrün und dunkelrot absorbierenden Rezeptor in Frage kommt, allein schon wegen der Zweiphasigkeit des Spektrums und der bis 500 nm reichenden Aktivität.
Ein Rezeptorsystem mit gleichen spektralen Eigenschaften ($P_{420} \longleftrightarrow P_{550-560}$) wurde von Nichols und Bogorad (1962) für die Biliproteinsynthese einer chlorophyllfreien Mutante von Cyanidium beschrieben. Trotz der Übereinstimmung in vielen Details muß aber offen bleiben, ob ein Zusammenhang zwischem dem Rezeptorsystem von Cyanidium und dem bei Porphyridium beschriebenen besteht.
Um zu überprüfen, ob die Stärke des Randeffektes direkt von der Ansammlungsdichte in der Lichtfalle abhängt, wurde in derselben Versuchsserie die Dichte der Photoakkumulation bei konstantem Fallenlicht (434 nm, 1350 pE . cm^{-2} . s^{-1}) und verschiedenen Wellenlängen des Hintergrundlichtes (110 pE . cm^{-2} . s^{-1}) bestimmt. Die spektrale Wirksamkeit des Hintergrundlichtes auf die Ansammlungsdichte ist in Abb. 30 wiedergegeben.

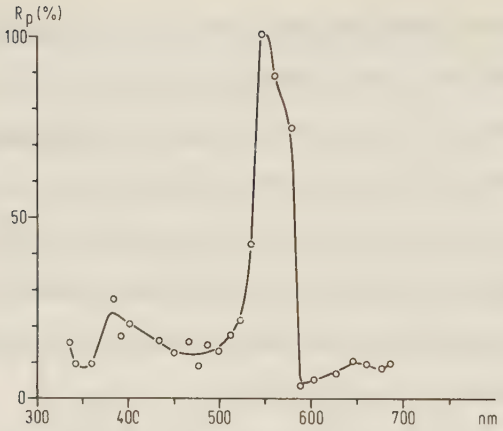


Abb. 30: Spektrale Wirksamkeit des Hintergrundlichtes (110 pE . cm^{-2} . s^{-1}) auf die Ansammlungsdichte in einer Lichtfalle (434 nm, 1350 pE . cm^{-2} . s^{-1}). Abszisse: Wellenlänge des Hintergrundlichtes in nm; Ordinate: Reaktionswert in Prozent des Maximalwertes

Eine starke Steigerung der Ansammlungsdichte wird durch grünes Hintergrundlicht erzielt. Im Rotbereich hingegen bleiben die von Chlorophyll absorbierten Wellenlängen nahezu unwirksam. Es ist daher anzunehmen, daß für den peak bei 380 nm nicht das Chlorophyll, sondern das Phycoerythrin verantwortlich ist, das bei 370 nm ein distinktes Absorptionsmaximum besitzt (s. Glazer and Hixson, 1977). Der Verlauf des Spektrums ist in zweierlei Hinsicht von Bedeutung:

1. Der unterschiedliche Verlauf der beiden in Abb.29 und Abb.30 dargestellten Spektren beweist, daß der Randeffekt nicht

von der Ansammlungsdichte abhängt, sondern sich unabhängig von ihr ausbildet.

2. Bei Einstrahlung eines blauen Fallenlichtes, das überwiegend von Pigmenten absorbiert wird, die zum Photosystem I gehören (Chlorophyll: Ley and Butler, 1976; β-Carotin: Goedheer, 1969), wird die Photoakkumulation durch diejenigen Wellenlängen des Hintergrundlichtes besonders gesteigert, die durch Phycoerythrin (und evtl. Phycocyanin) absorbiert werden. Hintergrundlicht, das vom Chlorophyll absorbiert wird, führt weder im roten noch im blauen Absorptionsbereich zu einer Zunahme der Fallendichte. Die Wirksamkeit einer Lichtfalle ist offensichtlich dann am stärksten, wenn die Organismen eine Lichtfalle verlassen, in der beide Photosysteme (PS I durch das Fallenlicht, PS II durch das Hintergrundlicht) angeregt werden, und in das Fallenumfeld eintreten, in das nur PS II-Licht eingestrahlt wird.

Über die Art und Weise, wie bei Porphyridium cruentum die Ausbildung des Randeffekts in Lichtfallenversuchen gesteuert wird, können zunächst nur Vermutungen angestellt werden. Vor allem muß die Reaktionsweise der Algen beim Übertritt aus einem blauen Lichtfeld in den schwachroten Hintergrund und umgekehrt beschrieben werden. Hierfür wird die Beobachtung von Einzelzellen notwendig, die im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt werden konnte. Sie muß daher einer späteren Untersuchung vorbehalten bleiben.

4.5. Hofbildung und Phototaxis

Diffuse Ansammlungshöfe wie der in Tafel 1.4 abgebildete (s. auch Abb. 27) können durch positive Phototaxis hervorgerufen werden. Hierbei wirken die im Lichtfeld befindlichen Zellen als sekundäre Lichtquellen. Dies kann sich in zweierlei Hinsicht auf die zu messende Ansammlungsdichte auswirken:

1.) Der Ansammlungshof um die eigentliche Lichtfalle erschwert die Auswertung der densitometrisch erhaltenen Kurven, da sich die Basislinie, die die auszumessende Fläche nach unten begrenzt und die sich aus der Extinktionshöhe des Fallenumfeldes ergibt (s. Abb.10), nur sehr unzureichend bestimmen läßt.
Bei starker Hofbildung kann es sogar dazu kommen, daß die Dichte im Lichtfeld geringer ist als die im Hof, so daß der Eindruck einer Fallenentleerung vermittelt wird (Abb. 31).

Abb.31 : Schwärzungsmesser-Kurve einer Fallenansammlung mit starker Hofbildung. Fallenlicht: 451 nm, 560 pE . cm^{-2} . s^{-1}, Hintergrundlicht: RG 2,500 erg . cm^{-2} . s^{-1}

2.) Die Eintrittsrate von Organismen in die Lichtfalle ändert sich, da zum einen der Übertritt über die Fallengrenze nicht mehr rein

zufällig ist, sondern von der phototaktischen Wirksamkeit des Fallenlichts abhängt, zum anderen, weil sich die Zahl der hierfür in Frage kommenden Organismen in den Partien um den Fallenrand ständig vermehrt. Für Messungen der phototaktischen Empfindlichkeit von Organismen sind Lichtfallenversuche wie sie Bünning und Schneiderhöhn (1956), Gössel (1957), Diehn und Tollin (1966), Watanabe und Furuya (1974) durchführten, wenig geeignet. Eine kritische Wertung dieser Experimente findet sich bei Nultsch (1975).

Wenn die beschriebene Hofbildung tatsächlich auf phototaktische Anlockung zurückzuführen ist, dann kann durch Einstrahlung eines phototaktisch wirksamen Hintergrundlichtes die Lockwirkung des von der Falle ausgestrahlten Streulichtes aufgehoben werden. Eine Hofbildung und die dadurch entstehende Verfälschung der phobotaktischen Meßwerte kann auf diese Weise vermieden werden. Um zu prüfen, ob diese Möglichkeit, die Hofbildung zu unterdrücken, bei Porphyridium besteht, muß zunächst der Energiebedarf und die spektrale Empfindlichkeit der phototaktischen Reaktion bei Porphyridium ermittelt werden. Nach der Impffleckmethode (s.S. 27) wurde die Dosis-Effekt-Abhängigkeit im Weißlicht und die Wirkung quantengleicher monochromatischer Strahlung verschiedener Wellenlängen bei konstantem roten Hintergrundlicht (RG 2, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}) untersucht.

Für Weißlicht ergibt sich zwischen 300 und 30 000 Lux eine nahe-

zu gleichbleibende Reaktion (Abb. 32). Die Sättigung der Phototaxis wird demnach bereits bei niedrigen Intensitäten erreicht. Eine negative Reaktion tritt auch bei Verwendung sehr hoher Intensitäten nicht auf. Bei den um 14° zur Lichtquelle hin geneigten Schalen werden die Zellen durch Bestrahlung mit 100 000 Lux bewegungslos ("Lichtstarre"). Waagerecht exponierte Proben zeigten bei dieser Beleuchtungsstärke noch eine Aktivität von mehr als 50% des Sättigungswerts (hierzu s. Kap. 2.2.4.). Eine Intensität von 300 000 Lux, bei der das Locklicht mit Hilfe einer Sammellinse(f = 20cm) gebündelt wurde, führte zum Absterben der Zellen.

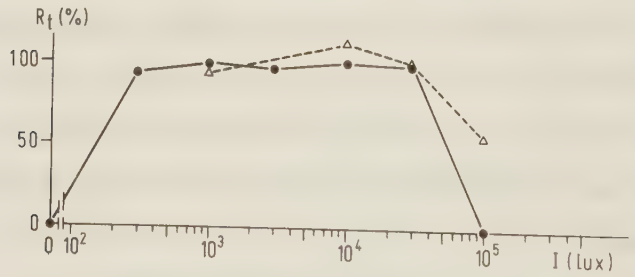


Abb. 32: Dosis-Effekt-Kurve der Phototaxis in Weißlicht
Abszisse (log): Beleuchtungsstärke in Lux; Ordinate: phototaktischer Reaktionswert in Prozent des Maximalwertes. Durchgezogene Linie mit Punkten: Versuchsschalen 14° zur Lichtquelle hingeneigt; gestrichelte Linie mit Dreiecken: waagerechte Exponierung

Die spektrale Wirksamkeit von seitlich eingestrahltem Licht konstanter Quantenstromdichte (560 pE . cm^{-2} . s^{-1}) auf die Phototaxis ist in Abb. 33 dargestellt. Bei 510 nm ist die phototaktische Reaktion am stärksten. Wegen der höheren Streuung der Einzelwerte unterhalb von 424 nm ist der Verlauf der Kurve in diesem Bereich nicht ausreichend gesichert. Oberhalb von 580 nm sind keine phototaktischen Bewegungen mehr nachzuweisen. Da für die Hintergrundbeleuchtung nur Licht unterhalb von 600 nm verwendet wurde (λ_H = 630 nm), kann eine mögliche Abschwächung der Empfindlichkeit für das Locklicht ausgeschlossen werden. Da der Sättigungswert der Phototaxis bereits bei niedrigen Intensitäten erreicht wird (Abb. 32) und der Blaulichtbereich phototaktisch gut wirksam ist (Abb. 33), soll im folgenden versucht werden, durch Einstrahlung eines blauen Hintergrundlichtes niedriger Intensität die phototaktische Wirksamkeit des gestreuten Fallenlichtes aufzuheben. Gleichzeitig könnte auch der Randeffekt unterdrückt werden, der nur bei Hintergrundwellenlängen oberhalb von 500 nm ausgebildet wird (Abb. 29). Für die Hintergrundbeleuchtung in den folgenden Versuchen wurde daher ein BG 12-Filter (Schott & Gen.) eingesetzt (Transmission s. Abb. 8). Um die photokinetische Wirkung des bisher verwendeten Rotlichts zu erzielen, wurde die Blaulicht-Intensität ermittelt, die zu gleicher Fallendichte (Fallenlicht RG 2, 3500 erg . cm^{-2} . s^{-1}) wie das Rotlicht führt. Es zeigte sich, daß die gesuchte Inten-

sität ebenfalls ca. 500 erg . cm^{-2} . s^{-1} beträgt (Abb. 34).

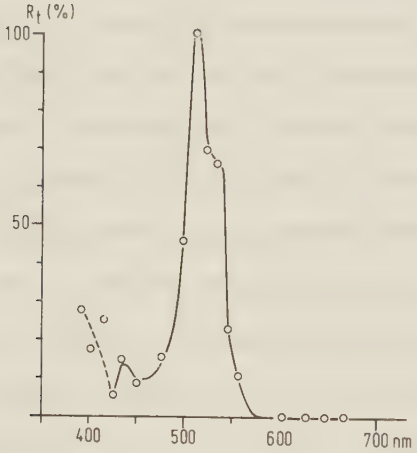


Abb. 33: Spektrale Wirksamkeit von Licht gleicher Quantenstromdichte (560 pE . cm^{-2} . s^{-1}) auf die Phototaxis. Abszisse: Wellenlänge in nm; Ordinate: phototaktischer Reaktionswert in Prozent des Maximalwertes. Wegen der höheren Streuung der Einzelwerte ist die Kurve unterhalb von 424 nm gestrichelt dargestellt.

4.6. Doppelbelichtung mit blauem Hintergrundlicht

Einige der für verschiedene Fallenwellenlängen ermittelten Dosis-Effekt-Kurven bei gleichzeitiger Einstrahlung von blauem Hintergrundlicht (BG 12 - Farbglasfilter, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}) sind in Abb. 35 dargestellt.

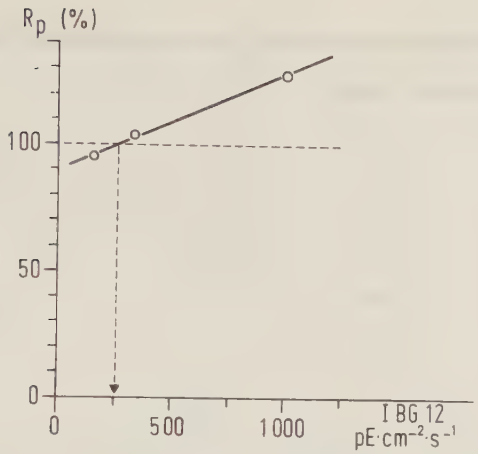


Abb. 34: Abhängigkeit der Ansammlungsdichte (R_p) in einer Lichtfalle (RG 2, 3500 erg . cm^{-2} . s^{-1}) von der Intensität der Hintergrundbeleuchtung (I BG 12). Die Ansammlungsdichte bei gleichem Fallenlicht und einem roten Hintergrundlicht (RG 2) von 500 erg . cm^{-2} . s^{-1} ist gleich 100 % gesetzt.

Alle Dosis-Effekt-Kurven steigen zunächst linear, wenn auch unterschiedlich stark an. Nur bei einigen besonders wirksamen Wellenlängen beginnen sich die Kurven im Bereich höherer Energien abzuflachen und auf ein Sättigungsniveau einzubiegen. Die für R_p = 100 % gemessenen oder extrapolierten Werte befinden sich im linearen Teil der Dosis-Effekt-Kurven. Aus den einem R_p-Wert von 100 % zugehörigen Wert für die Quantenstromdichte wurde das in Abb. 36 dargestellte Aktionsspektrum ermittelt.

Im Vergleich mit den Aktionsspektren ohne bzw. mit rotem Hintergrundlicht fällt auf, daß das Hauptmaximum von 503 nm bzw. 512 nm

nach 560 nm verschoben ist und damit in den Bereich der stärksten Phycoerythrinabsorption fällt.

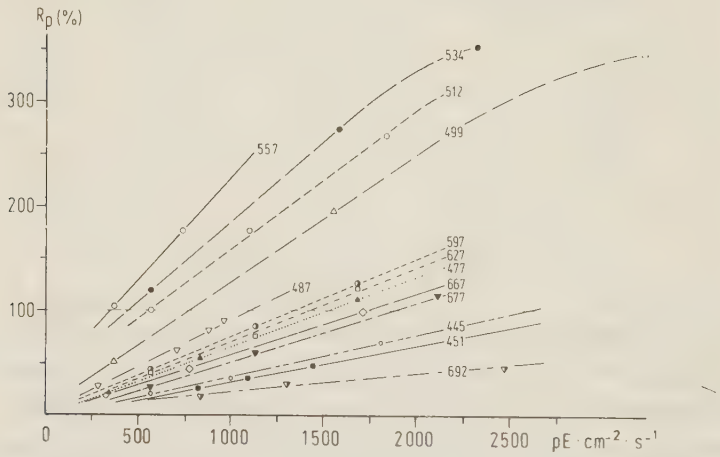


Abb. 35: Dosis-Effekt-Kurven für die Photoakkumulation (Auswahl) bei blauem Hintergrundlicht (BG 12, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}). Ordinate: Reaktionswert in Prozent der Kontrolle (Falle: 557 nm, 560 pE . cm^{-2} . s^{-1}; Hintergrundlicht: RG 2, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1})

Die Maxima bei 434 nm und 666 nm belegen die Beteiligung von Chlorophyll an der Steuerung der phobischen Reaktion. Wegen des geringen Gehalts an Allophycocyaninen (5 % der Biliproteine nach Glazer and Hixson,1977) mit Absorptionsmaxima bei 641 nm und 654 nm (- 196° C, Allophycocyanin) und 630 nm und 675 nm (-196° C, Allophycocyanin B; nach Ley et al., 1977) spielen diese Biliproteine hier eine relativ geringe Rolle.

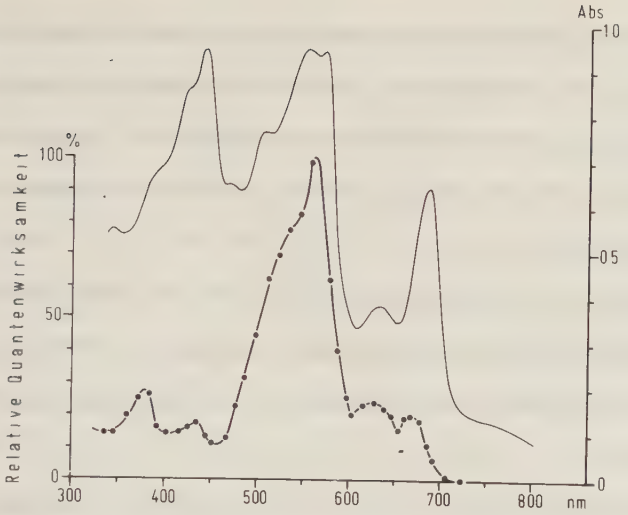


Abb. 36: Aktionsspektrum der phobischen Reaktion bei blauer Hintergrundbeleuchtung (BG 12, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}) und Absorptionsspektrum ganzer Zellen. Abszisse: Wellenlänge in nm; Ordinate: relative Quantenwirksamkeit in Prozent des Maximalwertes bzw. Absorption

Dem Gipfel bei 380 nm entspricht eine Absorptionsbande des Phycoerythrins (s. Glazer and Hixson, 1977) bei ca. 370 nm. Obwohl Chlorophyll in diesem Bereich noch eine starke Absorption besitzt, scheint es für die Photoakkumulation bei 380 nm nur eine geringe Rolle zu spielen. Hierfür spricht einerseits die schwache Wirksamkeit von Wellenlängen im Bereich der Absorptionsmaxima, andererseits die Tatsache, daß in dem Spektrum für die Wirksamkeit des Hintergrundlichtes auf die Photoakkumulation (Abb. 30) das Nebenmaximum bei 380 nm mit großer Wahrscheinlichkeit dem

Phycoerythrin zugeordnet werden kann. Auf die Tatsache, daß Phycoerythrin in diesem Bereich sehr wirkungsvoll Strahlung absorbiert und stärker, als nach der Absorption zu erwarten ist, in Form von Fluoreszenz bei 580 nm wieder emittiert, haben Leibo und Jones (1964) hingewiesen.

Überlagerungen der Photoakkumulation durch den Randeffekt und durch Phototaxis bei Fallenlicht-Wellenlängen unterhalb von 550 nm treten bei Einstrahlen eines blauen Hintergrundlichtes erwartungsgemäß nicht mehr auf.

Auch photokinetisch bedingte Fallenentleerungen bei Fallenlicht - Wellenlängen oberhalb von 695 nm werden durch blaues Hintergrundlicht verhindert.

Da die Reizperzeption im wesentlichen über die Absorption der Biliproteine und des Chlorophylls erfolgt, ist anzunehmen, daß beide Photosysteme an der Steuerung der phobischen Reaktion beteiligt sind. Diese Annahme wird dadurch bestätigt, daß die Wirkung einer Lichtfalle, in die PS I-Licht eingestrahlt wird, dann am stärksten ist, wenn die Hintergrundbeleuchtung das PS II anregt (s.S. 61). Dem nichtzyklischen (bzw. pseudozyklischen) Elektronentransport, durch den beide Lichtreaktionen verbunden werden, kommt damit für die Steuerung der phobischen Reaktion besondere Bedeutung zu.

In den bisherigen Versuchen konnte gezeigt werden, welche Faktoren die Photoakkumulation von Porphyridium beeinflussen können und auf welche Weise es gelingt, Überlagerungen der phobischen Reaktion

durch andere lichtgesteuerte Bewegungsreaktionen auszuschließen und die dadurch entstehenden Fehler zu vermeiden. Das endgültige Aktionsspektrum der Photoakkumulation (Abb. 36) verdeutlicht die überragende Rolle der Biliproteine als Rezeptorpigmente. Demgegenüber bleibt das Chlorophyll von untergeordneter Bedeutung. Die Beteiligung der Photosynthesepigmente an der Reizperzeption belegt die enge Kopplung von phobischer Reaktion und Photosynthese. Die Auslösung einer photophobischen Reaktion durch eine plötzliche Änderung des ATP-Gehaltes im Sinne der Hypothese von Links (1955) konnte bisher bei keinem Organismus bestätigt werden. Die Kopplung von phobischer Reaktion und Photosynthese beruht nach der von Nultsch (1965; 1968) und Nultsch und Jeeji-Bai (1966) an Blaualgen erarbeiteten Hypothese darin, daß phobische Reaktionen durch Änderungen im steady state des photosynthetischen Elektronentransportes ausgelöst werden.

Für die Untersuchung der Frage, ob die phobische Reaktion von Porphyridium ebenfalls an den Elektronentransport gekoppelt ist, eignen sich Photosynthesehemmstoffe, die an verschiedenen Stellen der Elektronentransportkette angreifen.

5. VERSUCHE MIT HEMMSTOFFEN DER PHOTOSYNTHESE

Wenn die phobische Reaktion bei Porphyridium durch Verminderung der Elektronenflußrate im nichtzyklischen Elektronentransport ausgelöst wird, müssen solche Substanzen, die diesen Transport hemmen bzw. blockieren, in gleicher Weise auch auf die phobische Reaktion wirken. Demgegenüber sollte diese dann unverändert bleiben, wenn spezifisch der zyklische Elektronentransport unterbrochen wird.

Wegen der engen Kopplung von Elektronentransport und Photophosphorylierung können solche Hemmstoffe gleichzeitig die Energieversorgung der Zellen und damit die Bewegungsgeschwindigkeit beeinträchtigen. Aus diesem Grund wird in den folgenden Untersuchungen jeder Hemmstoff auch darauf geprüft, welche Wirkung er auf die Bewegungsgeschwindigkeit hat. Nur wenn die phobische Reaktion bei Konzentrationen gehemmt wird, bei denen die Bewegungsgeschwindigkeit nicht oder nicht in gleichem Ausmaß vermindert wird, darf angenommen werden, daß der Hemmstoff spezifisch in die Prozesse eingreift, die bei der Steuerung der phobischen Reaktion in der Zelle ablaufen.

Um photokinetische und phototaktische Einflüsse auf die Photoakkumulation zu vermeiden, wurden bei allen Lichtfallenversuchen mit Hemmstoffen rotes Fallenlicht (Plexiglasfilter, s. Abb. 8) von 16700 erg . cm^{-2} . s^{-1} und blaues Hintergrundlicht (BG 12,

s. Abb. 8) von 500 erg . cm^{-2} . s^{-1} verwendet.

5.1. Hemmstoffversuche mit DCMU

Das DCMU (=3-(3,4-Dichlorophenyl)-1,1 dimethylurea) gilt als ein sehr spezifisch wirkender Hemmstoff des photosynthetischen Elektronentransports. Es trennt den Primärakzeptor Q des PS II von dem pool des sekundären Quenchers A, dem Plastochinon (Katoh et al., 1972; Trebst, 1974). Der zyklische Elektronentransport und damit die zyklische Photophosphorylierung werden erst bei sehr hohen Konzentrationen gehemmt (Gingras et al., 1963; van Rensen, 1969; Bedell and Govindjee, 1973; Good and Izawa, 1973; Bornefeld and Simonis, 1974). Nach Izawa (1969) soll es sich allerdings nicht um eine Hemmung der Photophosphorylierung, sondern um einen entkoppelnden Effekt handeln, der mit einem gesteigerten Elektronentransport in PS I verbunden ist.

5.1.1. Permeation von DCMU

DCMU wird in der Regel von lebenden Pflanzenzellen gut aufgenommen (s. Nultsch, 1974). Bei einigen Blaualgenarten mit starker Schleimentwicklung kann DCMU die Schleimhülle offensichtlich nicht durchdringen, so daß es wirkungslos bleibt (Nultsch, 1974). Die starke Schleimhülle bei Porphyridium könnte die Penetration ebenfalls be-

hindern, so daß die volle Wirksamkeit erst nach längerer Inkubation erreicht wird. Eine Überprüfung der Eintrittsgeschwindigkeit von DCMU ist daher notwendig.

Porphyridium wurde in NL bei einer Zellzahl von 2,5 . 10^7 Z/ml im Reaktionsgefäß des Oxygraphen mit Rotlicht (RG 2) einer mittleren Intensität von 1,5 . 10^5 erg . cm^{-2} . s^{-1} bestrahlt. Diese Intensität liegt im linearen Bereich der halblogarithmisch aufgetragenen Dosis-Effekt-Kurve (s. Abb. 37). Die O_2-Messung ergab über einen Zeitraum von ca. 10 min eine annähernd konstante Sauerstoff-Produktion.

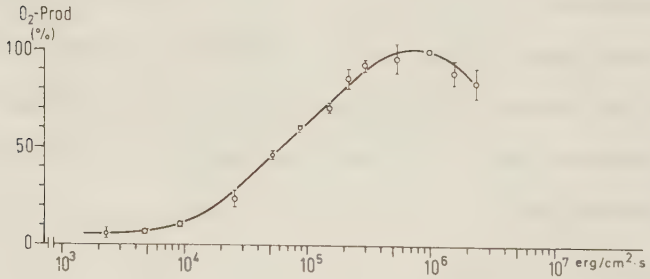


Abb. 37: Abhängigkeit der photosynthetischen O_2-Produktion von der Rotlicht-Intensität (rotes Plexiglas-Filter). Abszisse (log): Intensität in erg . cm^{-2} . s^{-1}); Ordinate: O_2-Produktion in Prozent des Sättigungswertes

Um den Zeitraum zwischen der Zugabe von DCMU und dem Beginn der Photosynthesehemmung exakt bestimmen zu können, wurde während

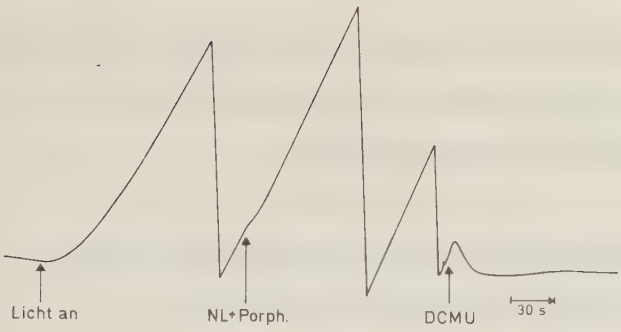


Abb. 38: Sauerstoff-Entwicklung einer Porphyridium-Suspension nach Einschalten der Belichtung ("Licht an"; RG 2, 1,5 . 10^5 erg . cm^{-2} . s^{-1}) nach Zugabe von 0,2 ml NL + Porphyridium (als Kontrollversuch) und von 0,2 ml DCMU (Endkonzentration: 1 . 10^{-5} M) Schreibrichtung von links nach rechts; Schreibergeschwindigkeit wie eingezeichnet (Originalkurve).

der O_2-Messung eine Lösung von DCMU in NL mit einer kalibrierten ml-Spritze durch das Steigrohr direkt in den Reaktionsraum gespritzt. Zugabe und völlige Durchmischung dauerten nur wenige Zehntelsekunden. In Kontrollversuchen wurde statt der Hemmstofflösung eine gleiche Menge (0,2 ml) NL und NL + Algen zugegeben. Alle Lösungen wurden vor der Zugabe mit Luft durchperlt, um den selben Sauerstoffgehalt herzustellen. Während die O_2-Produktion durch die Zugabe von NL und NL + Algen von einem kurzfristigen Effekt abgesehen nicht nachhaltig verändert wurde, nahm innerhalb 1-5 Sekunden nach Zugabe von 0,2 ml 10^{-4} M DCMU-Lösung zu 1,8 ml Algensuspension (Endkonzentration: 1 . 10^{-5} M DCMU) der O_2-Gehalt rapide ab. Nach wenigen Minuten wurde ein konstanter O_2-Verbrauch entsprechend der Atmung gemessen (Abb. 38). Die

angesichts der relativ trägen polarographischen Meßmethode sehr schnell eintretende Hemmung der O_2-Produktion schließt Penetrationsprobleme offensichtlich völlig aus.

5.1.2. Einfluß von DCMU auf die Sauerstoff-Entwicklung bei unterschiedlicher Inkubationsdauer

Besonders bei langfristigen Versuchen kann die Wirkung von DCMU aus verschiedenen Gründen nachlassen:

1. DCMU wird von Bakterien abgebaut. Durch den unsterilen Versuchsansatz ist bakterielle Kontamination unvermeidlich. Bei hohen DCMU Konzentrationen wurde in den Versuchsschalen nach wenigen Tagen starkes Bakterienwachstum beobachtet.
2. Es ist denkbar, daß auch die Testorganismen selbst DCMU metabolisieren können. Diehn und Tollin (1967) schließen diese Möglichkeit als Ursache für die Erholung von Euglena in hohen DCMU-Konzentrationen aus.
3. Diehn und Tollin (1967) diskutieren einen endogenen bypass, der den DCMU-Block umgehen soll. Die von diesen Autoren vorgelegten Ergebnisse, nach denen sich die völlige Hemmung der phototaktischen Reaktion mit zunehmender Inkubationsdauer wieder "erholt", können jedoch deshalb nicht eindeutig im Sinne eines bypasses interpretiert werden, weil der Versuchsaufbau eine experimentelle Trennung der verschiedenen Photoreaktionen nicht zuläßt (zur Kritik des 'Phototaxigraphen': s.

Nultsch, 1975). Durch Zugabe externer Elektronendonatoren wie z.B. Kaliumferrozyanid kann die durch DCMU hervorgerufene Hemmung der Photokinese bei Phormidium zum mindesten teilweise wieder aufgehoben werden (Nultsch, 1965).

Es wurde daher zunächst geprüft, wie sich die O_2-Produktion nach bis zu 7 Tagen Inkubation in verschiedenen DCMU-Konzentrationen und bei unterschiedlicher Beleuchtungsstärke verändert. Um Zellvermehrung auszuschließen, wurden die Flüssigkeitskulturen in Reagenzgläsern im Dunkeln und ohne Begasung bis zum Versuch aufbewahrt.

Die Zeitabhängigkeit der DCMU-Wirkung auf die photosynthetische O_2-Produktion ist in Abb. 39 für Rotlicht (RG 2, 10^6 erg . cm^{-2} . s^{-1}) wiedergegeben. Die Kurve für geringere Intensitäten (bis 10^4 erg . cm^{-2} . s^{-1}) liegen insgesamt niedriger, zeigen aber den gleichen Verlauf (ohne Abbildung).

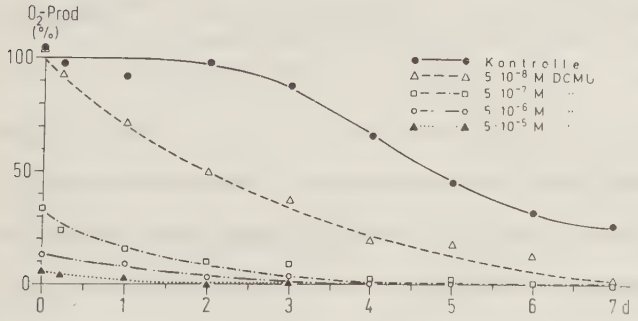


Abb. 39: Änderungen der O_2-Entwicklung von Porphyridium während einer 7-tägigen Inkubation in NL bzw. den angegebenen DCMU-Lösungen. Abszisse: Inkubationszeit in Tagen; Ordinate: O_2-Produktion in Prozent des Kontrollwertes bei Versuchsbeginn

Der Einfluß der DCMU-Konzentration auf die Hemmung der O_2-Entwicklung wurde nach Inkubationszeiten zwischen 5 Minuten und 7 Tagen bei Rotlichtbestrahlung (RG 2, 10^6 erg . cm^{-2} . s^{-1}) ermittelt (Abb. 40). Die Suspensionen wurden während der Versuchsdauer im Dunkeln und ohne Begasung aufbewahrt und nur während der Versuche belichtet.

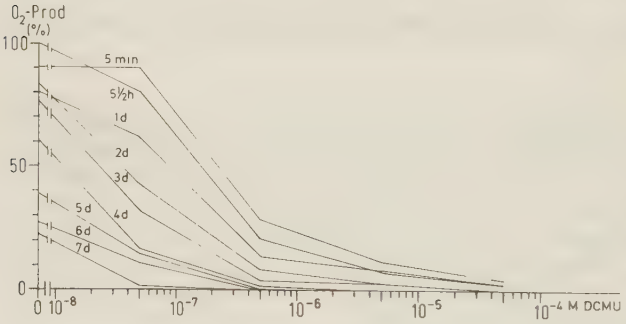


Abb. 40: Einfluß von DCMU auf die O_2-Produktion nach unterschiedlicher Inkubationszeit. Abszisse (log): DCMU-Konzentration in Mol; Ordinate O_2-Produktion in Prozent des Kontrollwertes.

In den jeweils über eine Woche laufenden Versuchsreihen sinkt die Photosyntheseleistung der Kontrolle nach 2 Tagen ab, was auf den Mangelzustand der Kulturen (Dunkelheit, keine Begasung) zurückzuführen ist (Abb. 39). Bereits eine DCMU-Konzentration von 5.10^{-8}

erweist sich als außerordentlich wirksam. Nach 5 1/2 Stunden ist die O_2-Produktion leicht, nach einem Tag deutlich gegenüber der Kontrolle vermindert. Sie sinkt nach zwei Tagen auf 50 % des Kontrollwertes. Innerhalb dieses Zeitraums ist bei der höchsten Konzentration ($5 \cdot 10^{-5}$ M) die O_2-Entwicklung der Photosynthese völlig blockiert. Eine Erholung der Zellen durch internes 'bypassing' findet bei Porphyridium also nicht statt. Die bei allen DCMU-Konzentrationen zu beobachtende progrediente Hemmung von PS II ist einerseits auf irreversible Veränderungen des Photosyntheseapparates zurückzuführen, wie sie z.B. Izawa (1969) an isolierten Chloroplasten und kolloidalen Chlorophyll-Suspensionen nach DCMU-Behandlung gefunden hat. Zum anderen können durch langfristige DCMU-Einwirkung auch solche Zellen gehemmt werden, die sich bei Versuchsbeginn in einem Entwicklungsstadium befinden, in dem sie z.B. aufgrund einer erschwerten Permeation des Hemmstoffs zunächst völlig oder teilweise unempfindlich sind (s. Frickel-Faulstich, 1974; Schäfer, 1975).

Daß einige Zellen trotz z.T. sehr hoher DCMU-Konzentrationen nicht oder wenig gehemmt werden, zeigt ihre Beweglichkeit, die anhand von Schleimspuren mikroskopisch nachgewiesen wurde. Die Dosis-Effekt-Kurven (Abb. 40) verlaufen je nach Inkubations-

dauer unterschiedlich. Im Bereich bis zu einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-7}$ M DCMU verhält sich die O_2-Entwicklung nach 2 Tagen Inkubation annähernd proportional zu log M DCMU. Der ED 50-Wert (= 50 % des Kontrollwertes) liegt für diese Kurve bei $3,4 \cdot 10^{-8}$ M DCMU. Entsprechende Werte für die 50 %-Hemmung des Elektronentransports ($3 \cdot 10^{-8}$ M) bei Chlorella werden von Rurainski (1976) angegeben.

5.1.3. Einfluß von DCMU auf die Photoakkumulation bei unterschiedlicher Inkubationsdauer

Da bei den O_2-Messungen weder Penetrationsprobleme noch Abschwächung oder Aufhebung der DCMU-Hemmung zu erkennen waren, ist das auch bei Lichtfallenversuchen nicht zu erwarten. In entsprechenden Versuchen wurden Schalen mit unterschiedlichen DCMU-Konzentrationen in Agar mit rotem Fallenlicht (Plexiglas-Filter; 16 700 erg $\cdot$ cm^{-2} $\cdot$ s^{-1}) und blauem Hintergrundlicht (BG 12, 500 erg $\cdot$ cm^{-2} $\cdot$ s^{-1}) bestrahlt. Die Ansammlungsdichte wurde nach 1/2, 1, 2, 3, 4, 4 1/2 und 6 1/2 Tagen Versuchsdauer ausgemessen. Die für die Kontrolle und die in Mol angegebenen DCMU-

Konzentrationen erhaltenen Werte sind in Abb. 41 zusammengefaßt. Nach einer anfänglichen Anlaufphase gehen alle Kurven sehr bald in eine Phase des linearen Anstiegs über, die für Konzentrationen zwischen $5 \cdot 10^{-8}$ M und $1 \cdot 10^{-6}$ M nach einer Woche noch nicht beendet ist. Bei geringeren Konzentrationen ($2 \cdot 10^{-8}$ M, $1 \cdot 10^{-8}$ M) und der Kontrolle biegen die Kurven nach drei Tagen auf ein Sättigungsniveau ein, das von der Kontrolle nach sieben Tagen erreicht wird. Der lineare Anstieg der Ansammlungsdichte gerade bei den höchsten DCMU-Konzentrationen ist der Beleg dafür, daß auch bei Lichtfallenversuchen der DCMU-Block weder umgangen, noch durch Metabolisierung oder bakterielle Zersetzung beseitigt wird. Damit werden die Ergebnisse der Photosynthese-Messungen bestätigt.

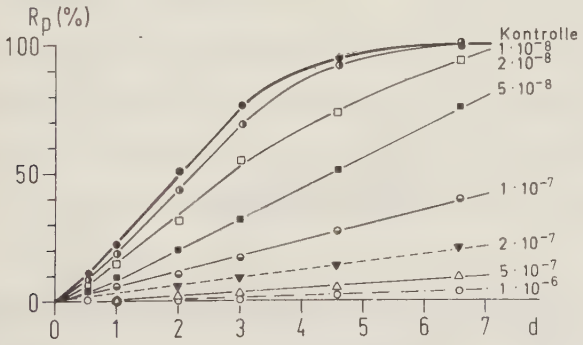


Abb. 41: Kinetiken der Photoakkumulation bei der Kontrolle und verschiedenen DCMU-Konzentrationen (Angaben in Mol). Abszisse: Versuchsdauer in Tagen; Ordinate: Reaktionswert in Prozent des Maximalwertes der Kontrolle. Fallenlicht: rotes Plexiglas-Filter, 16 700 erg . cm^{-2} . s^{-1}, Hintergrundlicht: BG 12, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}

Da sich alle Kurven nach zwei Tagen etwa in der Mitte der linearen Anstiegsphase befinden, ist eine Versuchsdauer von zwei Tagen auch für Hemmstoffversuche geeignet.

5.1.4. Einfluß der Konzentration von DCMU auf die Photoakkumulation

Werden die Reaktionswerte (in % des maximalen Kontrollwertes) gegen die DCMU-Konzentrationen aufgetragen, so erhält man für verschiedene Expositionszeiten Dosis-Effekt-Kurven (Abb. 42).

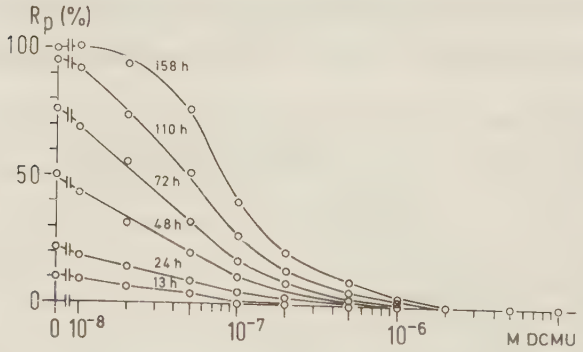


Abb. 42: Einfluß der DCMU-Konzentration auf die Photoakkumulation nach unterschiedlicher Versuchsdauer (in Stunden). Abszisse (log): DCMU-Konzentration in Mol. Ordinate: Reaktionswert in Prozent des Maximalwertes. Fallenlicht: rotes Plexiglas-Filter, 16 700 erg . cm^{-2} . s^{-1}; Hintergrundlicht: BG 12, 500 erg . cm^{-2} . s^{-1}

Bei einer Versuchszeit bis zu 3 Tagen fallen die Dosis-Effekt-Kurven im Konzentrationsbereich von 0 bis 10^{-7} M DCMU linear ab. Die Hemmwirkung von DCMU nimmt also exponentiell zu. Zwischen 10^{-7} M und 2 . 10^{-6} M erreichen alle Kurven den Nullwert. Bei höheren Konzentrationen läßt sich auch nach einer Woche Laufzeit keine Reaktion nachweisen.

Die DCMU-Konzentration, bei der 50 % des jeweiligen Kontrollwertes erreicht wird (ED 50), ist für die ersten 4 Expositionszeiten:

13 h: 3,6 . 10^{-8} M DCMU

24 h: 3,6 . 10^{-8} M "

48 h: 3,6 . 10^{-8} M "

72 h: 3,7 . 10^{-8} M "

Diese Werte stimmen gut mit der ED 50 der Photosynthese-Hemmung überein, der bei 3,4 . 10^{-8} M DCMU liegt (s.S. 80). Für 110 Stunden und 158 Stunden verschiebt sich die ED 50 auf 5,2 . 10^{-8} M bzw. 8,0 . 10^{-8} M. Hierfür ist nicht eine abnehmende Wirksamkeit verantwortlich, sondern die Tatsache, daß sich die Ansammlungsdichte der Kontrolle bei langer Versuchsdauer und schwacher DCMU-Konzentration dem Sättigungsniveau nähert.

Die starke Hemmwirkung von DCMU auf die Photoakkumulation belegt eindeutig, daß der die beiden Photosysteme verbindende Elektronentransport für das Zustandekommen einer Fallenansammlung von grundlegender Bedeutung ist. Ob durch DCMU nur die der eigentlichen

Bewegungsreaktion vorausgehenden Steuervorgänge oder zugleich die Beweglichkeit gehemmt werden, kann erst entschieden werden, wenn der Einfluß von DCMU auf die Bewegungsgeschwindigkeit geprüft worden ist. Für die zweite Möglichkeit spricht vor allem die Tatsache, daß die von niedrigen DCMU-Konzentrationen nicht gehemmte zyklische Photophosphorylierung bei den Eukaryonten eine geringere Bedeutung für die Energieversorgung hat als bei vielen Prokaryonten (Bedell and Govindjee, 1973; Bornefeld, 1976; Bottomley and Steward. 1976) und bei O_2- und CO_2-Anwesenheit möglicherweise überhaupt nicht stattfindet (Raven, 1970; Bedell and Govindjee, 1973). Daher kommt bei dieser Pflanzengruppe der durch DCMU hemmbaren nichtzyklischen und pseudozyklischen Photophosphorylierung, die mit zwei ATP-Bildungsstellen (Trebst and Reimer, 1973; Izawa et al., 1973; Trebst und Hauska, 1974; Trebst, 1976) wesentlichen Anteil an der Energieversorgung der lebenden Zellen hat, eine viel größere Bedeutung als bei den Prokaryonten zu.

Bei Porphyridium spielt die oxidative Phosphorylierung für die Energieversorgung des Bewegungsapparates offensichtlich nur eine untergeordnete Rolle, weil die Zellen im Dunkeln sehr bald unbeweglich werden.

5.1.5. Einfluß der DCMU-Konzentration auf die Bewegungsgeschwindigkeit

Der Einfluß von DCMU auf die Bewegungsgeschwindigkeit wurde nach der in Kap. 2.2.3. beschriebenen Impffleckmethode ermittelt. Die Ausbreitungshöfe wurden nach einer siebentägigen Bestrahlung mit diffusem Weißlicht (mattierter Deckel) von 2100 Lux ausgemessen.

Die in der Dosis-Effekt-Kurve (Abb. 43) erkennbare geringfügige Erhöhung der Bewegungsgeschwindigkeit bei 10^{-8} M DCMU dem Kontrollwert gegenüber kann auf eine Stimulation des zyklischen Elektronentransports oder der zyklischen Photophosphorylierung zurückzuführen sein (Forti and Parisi, 1963; Izawa, 1969; Rurainski et al., 1970; Gimmler, 1977). Die hohe DCMU-Empfindlichkeit der Photokinese beweist die oben geäußerte Vermutung, daß das für die Bewegung notwendige ATP bei Porphyridium im wesentlichen auf dem Wege der nichtzyklischen (bzw. pseudozyklischen) Photophosphorylierung gebildet wird.

Der Kurvenverlauf ist nahezu identisch mit dem für die Hemmung der Photoakkumulation nach etwa gleicher (158 h) Laufzeit (s. Abb. 42): dem R_{k50}-Wert von 7,5 . 10^{-8} M entspricht bei der Photoakkumulation ein ED 50-Wert von 8,0 . 10^{-8} M. Bei 2 . 10^{-6}M werden die Beweglichkeit und die Ansammlung in einer Lichtfalle vollständig gehemmt. Das hohe Maß an Übereinstimmung zwischen

beiden Kurven legt die Vermutung nahe, daß die Hemmung der Photoakkumulation durch DCMU vor allem eine Folge der verminderten B e w e g u n g s g e s c h w i n d i g k e i t ist. Ob die p h o b i s c h e R e a k t i o n durch DCMU in gleicher Weise gehemmt wird, läßt sich in Populationsversuchen nicht entscheiden. Hierfür sind Einzelzellbeobachtungen notwendig, die im Rahmen dieser Untersuchung nicht möglich waren. Bei der mikroskopischen Kontrolle des Impffleckrandes konnte anhand von Schleimspuren nachgewiesen werden, daß einzelne Zellen auch bei sehr hohen Konzentrationen (z.B. 1 . 10^{-5} M) beweglich waren.

Um den Einfluß von DCMU auf eine photische Reaktion zu prüfen, bei der das Photorezeptor-Pigment nicht direkt an den photosynthetischen Elektronentransport gekoppelt ist (vergl. Kap. 4.5.), wurde der Einfluß von DCMU auf die Phototaxis untersucht.

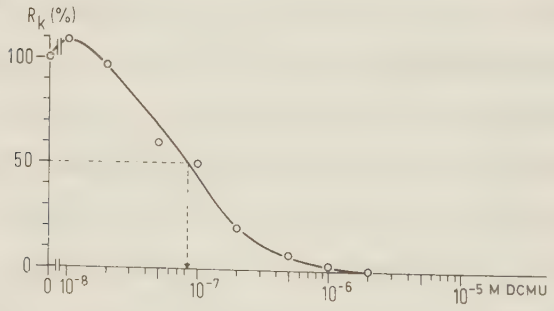


Abb. 43: Einfluß der DCMU-Konzentration auf die Bewegungsgeschwindigkeit im Weißlicht (2100 Lux). Abszisse (log): DCMU-Konzentration; Ordinate: photokinetischer Reaktionswert in Prozent der Kontrolle

5.1.6. Einfluß der Konzentration von DCMU auf die Phototaxis

Die Schalen wurden nach der in Kap. 2.2.4. beschriebenen neuen Methode mit senkrecht einfallendem Locklicht (Weißlicht, 1,5 . 10^4 Lux) zwei Tage bestrahlt. Bei der verwendeten Intensität ist eine gute phototaktische Reaktion zu erwarten (vergl. Abb. 32). Das Optimum der Photokinese liegt nach Nultsch (1975) bei 1 . 10^4 Lux. Die Empfindlichkeit der Phototaxis gegenüber DCMU (Abb. 44) mit einem R_{t50}-Wert von 8,5 . 10^{-8} M und einer vollständigen Hemmung bei einer Konzentration von 2 . 10^{-6} M DCMU gleicht der der Photokinese und der Photoakkumulation. Sie ist ganz offensichtlich die Folge der verminderten Bewegungsgeschwindigkeit.

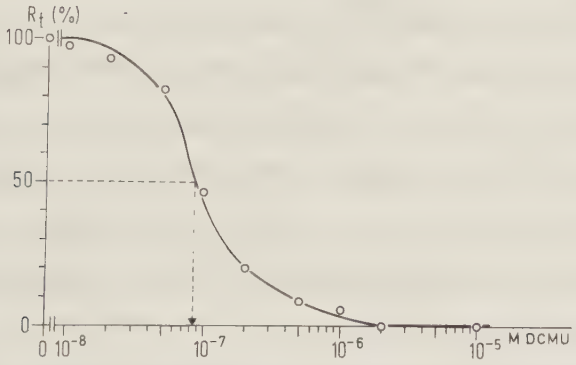


Abb. 44: Einfluß von DCMU auf die Phototaxis im Weißlicht (1,5 . 10^4 Lux). Abszisse (log): DCMU-Konzentration; Ordinate: phototaktischer Reaktionswert in Prozent der Kontrolle, gemessen als Extinktion (s. Kap. 2.2.4.)

5.1.7. Fallenaufhellung bei DCMU

Steigende DCMU-Konzentrationen können bei geeigneter Wahl von Fallen- und Hintergrund-Wellenlänge dazu führen, daß sich Phormidium uncinatum nicht in der Falle ansammelt. Phobische Reaktionen beim Eintritt in die Lichtfalle führen zu Fallenentleerungen (Häder, 1973). Bei Verwendung von hohen Intensitäten zeigen sich auch bei Porphyridium randscharfe Fallen-"Entleerungen", deren Stärke von der DCMU-Konzentration und der Bestrahlungsdauer abhängt. Während in den stark aufgehellten Feldern bei mikroskopischer Kontrolle keine Zellen mehr nachweisbar waren, wurden in weniger aufgehellten Feldern noch Zellfragmente und abgestorbene und ausgebleichte Zellen beobachtet. Um zu prüfen, ob an der Fallen-"Entleerung" Eintrittsreaktionen wie bei Phormidium beteiligt sind, wurden Versuche mit einer DCMU-Konzentration von $1 \cdot 10^{-5}$ M durchgeführt, bei der die Beweglichkeit mit Sicherheit völlig erloschen ist (vergl. Abb. 43). Wenn auch bei dieser Konzentration die Extinktion in den bestrahlten Feldern abnimmt, kann ein Zusammenhang mit phobischen Bewegungsreaktionen ausgeschlossen werden.

In Abb. 45 ist die Abhängigkeit der Fallenaufhellung von der eingestrahlten Rotlicht-Energie (Plexiglas-Filter) nach einer Versuchsdauer von zwei bzw. drei Tagen dargestellt.

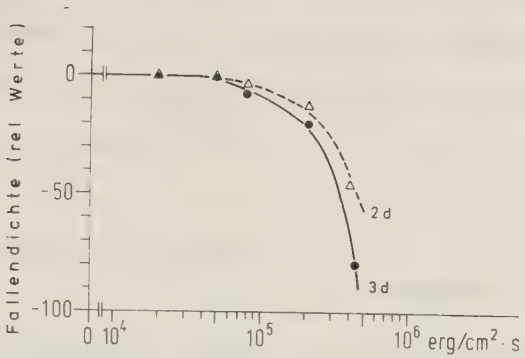


Abb. 45: Aufhellung der Lichtfallen in Abhängigkeit von der Energie des eingestrahlten Rotlichts (Plexiglas-Filter) bei einer DCMU-Konzentration von 1 . 10^{-5} Mol nach zwei bzw. drei Tagen Bestrahlungsdauer.
Abszisse (log): Rotlicht-Intensität; Ordinate: Fallendichte in relativen Werten.

Aufhellungen treten ab einer Fallenlicht-Energie von ca. 10^{5} erg . cm^{-2} . s^{-1} auf und nehmen bei höherer Energie stark zu. Nach einer Bestrahlungsdauer von drei Tagen ist die Aufhellung stärker als nach zwei Tagen.

Die Kinetik der Fallenansammlung einer Kontrollschale ohne DCMU und die der Fallenentleerung bei 1 . 10^{-5} M DCMU werden für verschiedene Bestrahlungsintensitäten in Abb. 46 einander gegenübergestellt. Während bei der Kontrolle die Ansammlungsdichte nach einer Phase des linearen Anstiegs auf ein Sättigungsniveau einbiegt, werden die Fallenaufhellungen bei Bestrahlungsenergien von

$8{,}3 \cdot 10^4$ erg . cm^{-2} . s^{-1} und mehr mit zunehmender Versuchsdauer immer stärker.

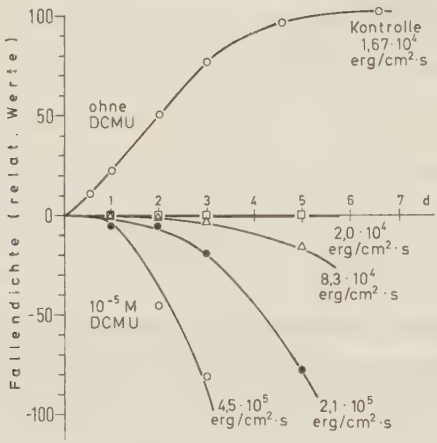


Abb. 46: Kinetik der Fallenaufhellung bei $1 \cdot 10^{-5}$ M DCMU und nach verschiedenen Fallenlicht-Intensitäten (RG 2) im Vergleich zur Kontrolle ohne DCMU. Abszisse: Versuchsdauer in Tagen; Ordinate: Fallendichte in relativen Werten.

Die unterschiedlichen Kinetiken belegen, daß der Fallenaufhellung bei einer hohen DCMU-Konzentration und Bestrahlungsenergie und der Fallenansammlung im Kontrollversuch völlig unterschiedliche Photoreaktionen zugrunde liegen. Da die Fallenaufhellungen bei DCMU-Konzentrationen auftreten, bei denen die Zellen bereits unbeweglich sind, und da die Reaktionskinetiken von Fallenansammlung und Fallenaufhellung auf zwei verschiedene Photoprozesse zurückzuführen sind, kann ausgeschlossen werden, daß die Fallenaufhellung die Folge von phobischen Eintrittsreaktionen ist.

Aufgrund der mikroskopischen Kontrolle und der erforderlichen hohen Lichtenergien muß eine Schädigung und Zerstörung der Zellen durch das Zusammenwirken von DCMU und hoher Bestrahlungsenergie als Ursache angenommen werden.

5.1.8. Pigmentveränderungen

Mit der Schädigung der Zellen ist eine Pigmentausbleichung verbunden, die mit dem Schwärzungsmesser wegen der IR-Transmission des RG N 9-Filters nicht gemessen wird. Schalen mit unterschiedlicher DCMU-Konzentration wurden zwei Tage mit Weißlicht ($1{,}5 \cdot 10^4$ Lux) homogen bestrahlt. Die Wirkung von DCMU auf die spektrale Absorption dieser Schalen verglichen mit der einer Kontrollschale ohne den Hemmstoff ist in Abb. 47 für drei Wellenlängen dargestellt. Von der Ausbleichung ist das Chlorophyll (gemessen als Absorption bei 676 nm) am stärksten betroffen. Der Phycoerythrin-Gehalt (Absorptionsmessung bei 552 nm) ist zunächst am stabilsten. Bei langer Versuchsdauer werden die Biliproteine jedoch so stark zerstört, daß die Zellen grün erscheinen. An der Absorption bei 467 nm sind außer dem Chlorophyll maßgeblich die Carotinoide beteiligt. Die Werte für eine Ausbleichung von 50 % liegen zwischen $8 \cdot 10^{-8}$ und $1{,}3 \cdot 10^{-7}$ M DCMU.

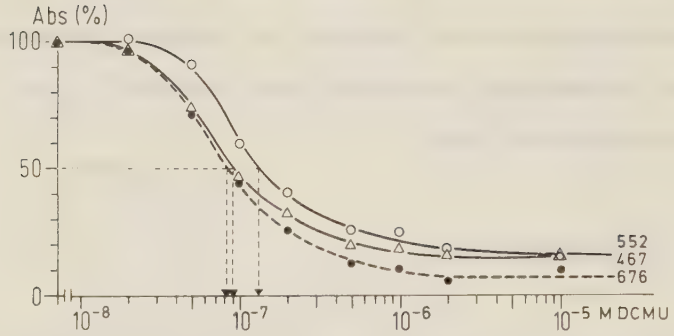


Abb. 47: DCMU-abhängige Pigmentveränderungen im Weißlicht (1,5 . 10^4 Lux). Angegeben ist die Absorption bei 467 nm, 552 nm und 676 nm im Vergleich zur Absorption der Kontrollschale ohne DCMU. Abszisse (log): DCMU-Konzentration in Mol; Ordinate: Absorption (in Prozent der Absorption der Kontrolle)

Der Verlauf der drei Dosis-Effekt-Kurven und die Werte für eine 50 %ige Ausbleichung (zwischen 8 . 10^{-8} M und 1,3 . 10^{-7} M DCMU) zeigen, daß die Ausbleichung der Pigmente bereits bei sehr niedrigen Konzentrationen erfolgt. Die von Izawa (1969) an Chloroplastenfragmenten und künstlichen Chlorophyll-haltigen Kolloiden und die von Orr et al. (1976) bei Eudorina beschriebenen Ausbleichungen treten erst bei hohen DCMU-Konzentrationen (= 10^{-5}M) auf. Möglicherweise ist die Ausbleichung der Pigmente teilweise für die Hemmwirkung von DCMU verantwortlich.

Die Versuche mit DCMU haben ergeben, daß die Hemmung der Photoakkumulation und der Phototaxis im wesentlichen auf die Hemmung

der Beweglichkeit zurückzuführen ist und die gleiche Empfindlichkeit diesem Hemmstoff gegenüber aufweist wie andere lichtabhängige Prozesse (O_2-Bildung, Abb. 40; Ausbleichen der Pigmente, Abb. 47). Ob die phobische Reaktion in gleichem Maß gehemmt wird, läßt sich anhand der vorliegenden Versuche nicht entscheiden.

5.2. Versuche mit DBMIB

Ein weiterer, sehr spezifisch im photosynthetischen Elektronentransport angreifender Hemmstoff ist das DBMIB (2,5-Dibromo-3-methyl-6-isopropyl-p-benzochinon), das von Trebst et al. (1970) eingeführt wurde und wegen seiner chemischen Ähnlichkeit mit dem Plastochinon als dessen Antagonist angesehen wird. Penetrationsprobleme bestehen nicht, da es als lipophiles Oxidans (Izawa et al., 1973) das Plasmalemma und die Chloroplastenhülle gut passieren kann (Gimmler, 1977). Es wird auch von Zellen, die von Schleimhüllen umgeben sind, (Phormidium: Häder, 1975; Spirulina: Robinson and Yocum, 1977) gut aufgenommen.
Bei Porphyridium blockiert DBMIB die Cytochrom f-Reduktion, auch über den zyklischen Elektronentransport (DCMU + PS I-Licht) (Biggins, 1974). Biggins schließt daraus, daß Plastochinon in den zyklischen Elektronentransport integriert ist (s. auch Trebst und Hauska, 1974). Amesz, et al. (1972), Amesz (1973) gelangen auf-

grund von Absorptionsmessungen des dem zyklischen Elektronentransport zugerechneten Cytochrom b_{563} zu dem Schluß, daß zumindest wesentliche Teile des Plastochinons nicht am zyklischen Elektronentransport teilhaben.

Die Kenntnis über die genaue Ansatzstelle von DBMIB ist dadurch erschwert, daß ganze Zellen auf den Hemmstoff anders reagieren als isolierte oder aufgebrochene Chloroplasten (Bauer and Wijnands, 1974; Kitajima and Butler, 1975; de Kouchkovsky, 1975); sie scheint jedoch in vivo zwischen Plastochinon und Cytochrom f zu liegen (Gimmler and Avron, 1971; Gimmler, 1977). Demnach ist nicht nur der nichtzyklische, sondern zumindest teilweise auch der zyklische Elektronentransport von der Hemmwirkung des DBMIB betroffen (Böhme et al., 1971; Urbach and Kaiser, 1972; Huber and Edwards, 1975), während die Atmung nicht gehemmt wird (Chevallier, et al., 1977).

Die Dosis-Effekt-Kurven für die Wirkung von DBMIB auf die Photoakkumulation und die Photokinese (Abb. 48) verlaufen nahezu identisch. Unterhalb einer Konzentration von $3 \cdot 10^{-7}$ M bleibt der Hemmstoff wirkungslos, eine 50 %-ige Hemmung der Photoakkumulation und Photokinese, wird durch $5 \cdot 10^{-6}$M - $6 \cdot 10^{-6}$ M erreicht. Konzentrationen oberhalb von $2 \cdot 10^{-5}$ M führen zu Zellschäden in den Lichtfallen (Fallenaufhellung) und zur Bewegungslosigkeit.

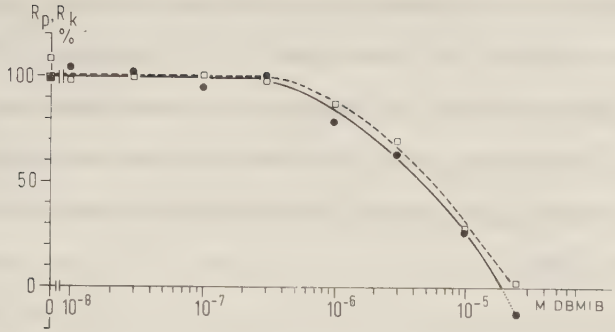


Abb. 48: Wirkung von DBMIB auf die Photoakkumulation (Kreise und durchgezogene Linie) und auf die Photokinese (Vierecke und gestrichelte Linie). Abszisse (log): DBMIB-Konzentration in Mol; Ordinate: Reaktionswert der Photoakkumulation (R_p) und der Photokinese (R_k) in Prozent der Kontrolle

Wie DCMU vermindert auch dieser Hemmstoff die Beweglichkeit und beeinflußt damit direkt die Ansammlungsdichte. Was schon die Dunkelstarre von Porphyridium und die DCMU-Versuche zeigten, wird auch durch die DBMIB-Versuche bestätigt: die oxidative Phosphorylierung spielt für die energetische Versorgung des Bewegungsapparates keine Rolle. Die Hemmung des Elektronenflusses zwischen PS II und PS I (Photokinese von Anabaena: 50 % Hemmung bei $1{,}5 \cdot 10^{-6}$ M, Nultsch und Hellmann, 1972; Cytochrom f-Reduktion: 50 % Hemmung bei ca. $2 \cdot 10^{-6}$ M, NADP-Reduktion: 50 % Hemmung bei $1{,}5 \cdot 10^{-6}$M, Gimmler and Avron, 1972) deckt sich mit der Hemmung der Beweglichkeit und der Photoakkumulation (50 % Hemmung bei ca. $5 \cdot 10^{-6}$ M).

Für die phobische Austrittsreaktion ergibt sich zwischen Porphyridium und Phormidium (50 % Hemmung bei 7 . 10^{-6} M, Häder, 1975) eine gute Übereinstimmung. Ein Umschlag in Eintrittsreaktionen konnte bei Porphyridium jedoch nicht beobachtet werden, obwohl in Falle und Hintergrund vornehmlich von PS I absorbiertes Licht eingestrahlt wurde.

5.3. Versuche mit DSPD

Um auf direktem Wege die Bedeutung des zyklischen Elektronentransports auf die Photoakkumulation und die Energieversorgung von belichteten Zellen unter aeroben Bedingungen zu untersuchen, können Hemmstoffe eingesetzt werden, die mit hoher Wirksamkeit den zyklischen Elektronentransport hemmen. Das von Trebst und Burba (1967) eingeführte lipophile Disalicylidenpropandiamin-(1,3) (= DSPD) hemmt verschiedene Ferredoxin-abhängige Reaktionen (Trebst und Burba, 1967; Raven, 1969; Gimmler, Urbach, Jeschke und Simonis, 1968; Bothe, 1972). In vivo erweist sich der zyklische Elektronentransport als erheblich empfindlicher als der ebenfalls Ferredoxin-abhängige nichtzyklische.
Die Dosis-Effekt-Kurve der DSPD-Wirkung auf die Photoakkumulation und auf die Photokinese verlaufen völlig identisch (Abb. 49). Auffällig ist die Unempfindlichkeit beider Reaktionen, bei denen die Hemmwirkung erst bei einer Konzentration von 10^{-5} M

beginnt. Eine Abnahme auf 50 % des Kontrollwertes wird durch 10^{-4} M erreicht.

Ähnliche DSPD-Unempfindlichkeit zeigen nur solche Reaktionen, die über den n i c h t z y k l i s c h e n Elektronentransport betrieben werden wie die CO_2-Fixierung bei Chlorella (50 % Hemmung bei 10^{-3} M, Trebst und Burba, 1967; 3 . 10^{-4} M, Raven, 1969), bei Ankistodesmus (6 . 10^{-4} M, Gimmler, Urbach, Jeschke und Simonis, 1968) und bei isolierten Chloroplasten (60 % Hemmung bei 10^{-3} M, Avron and Gibbs, 1974) oder die O_2-Produktion bei Chlorella (50 % Hemmung bei ca. 10^{-3} M, Trebst und Burba, 1967) und Elodea (ca. 6 . 10^{-4} M, Gimmler, Urbach, Jeschke und Simonis, 1968). Über den z y k l i s c h e n Elektronentransport gesteuerte Reaktionen sind in der Regel um 1 bis 2 Zehnerpotenzen empfindlicher. Es kann sich daher bei der Photoakkumulation und der Photokinese von Porphyridium nur um Reaktionsweisen handeln, die von dem die LR II und LR I verbindenden nichtzyklischen Elektronentransport abhängen. Der zyklische um LR I ist ganz offensichtlich nicht beteiligt. Die Mitwirkung von Ferredoxin am pseudozyklischen Elektronentransport ist derzeit fraglich (Gimmler, 1977).

Eine gewisse Einschränkung erfährt die Spezifität von DSPD durch die Tatsache, daß die Ferredoxin-unabhängige Atmung b.z.w. oxidative Phosphorylierung bereits bei Konzentrationen um 50 % vermindert wird, bei denen die Hemmwirkung auf den nichtzyklischen

Elektronentransport gerade beginnt (Gimmler et al., 1968). Eine Bestätigung findet dieser Befund in der Hemmung der Dunkelbeweglichkeit von Blaualgen (Nultsch, 1974). Es scheint also noch (eine) weitere Ansatzstelle(n) des DSPD außer dem Ferredoxin zu geben. Daß die Photoakkumulation und die Photokinese dennoch nicht bei diesen, sondern erst bei höheren Konzentrationen entsprechend gehemmt werden, belegt erneut die geringe Rolle, die die oxidative Photophosphorylierung für die Energieversorgung des Bewegungsapparates von Porphyridium besitzt. Für einen natürlichen bypass im zyklischen Elektronentransport um den DSPD-Block, wie ihn Häder (1976) bei Phormidium vermutet, konnte bei Porphyridium kein Anhalt gefunden werden.

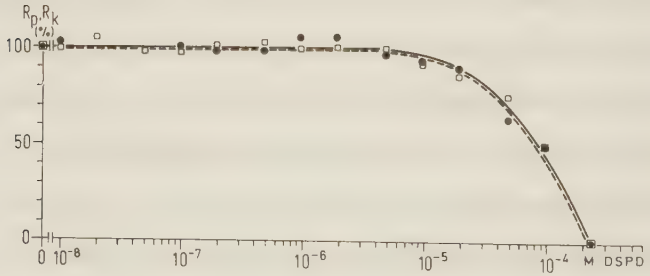


Abb. 49: Wirkung von DSPD auf die Photoakkumulation (Kreise und durchgezogene Linie) und auf die Photokinese (Vierecke und gestrichelte Linie). Abszisse (log): DSPD-Konzentration in Mol; Ordinate: Reaktionswert der Photoakkumulation (R_p) und der Photokinese (R_k) in Prozent der Kontrolle

5.4. Versuche mit Natriumazid

Natriumazid (NaN_3) gilt als Hemmstoff der Atmung und der Photosynthese in vitro und in vivo. Darüber hinaus hat es sich bei Chlamydomonas als spezifischer Hemmstoff der Phototaxis erwiesen (Stavis and Hirschberg, 1973; Stavis, 1974), da die Phototaxis durch Konzentrationen bereits vollständig gehemmt wird, die weder die Beweglichkeit noch die Atmung beeinflussen.
Bei Phormidium (Nultsch, 1967) und Euglena (Diehn and Tollin, 1967) allerdings werden lichtabhängige Bewegungsreaktionen durch Azid unspezifisch durch die Verminderung der Beweglichkeit gehemmt.
Die Wirkung von Azid auf die Photoakkumulation von Porphyridium unterscheidet sich bis zu einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-5}$ M nicht von der auf die Kinese (Abb. 50). Während die Beweglichkeit zwischen $5 \cdot 10^{-5}$ M und $5 \cdot 10^{-4}$ M nicht weiter gehemmt wird, sondern einen konstanten Reaktionswert von mehr als 50 % der Kontrolle beibehält, sinkt die Dosis-Effekt-Kurve für die phobische Reaktion bis auf 13 % ab, bleibt aber auf diesem Niveau bis zu einer Konzentration von 10^{-3} M. Die völlige Bewegungslosigkeit und die Fallenaufhellungen bei höheren Konzentrationen sind auf Zellschädigungen zurückzuführen.

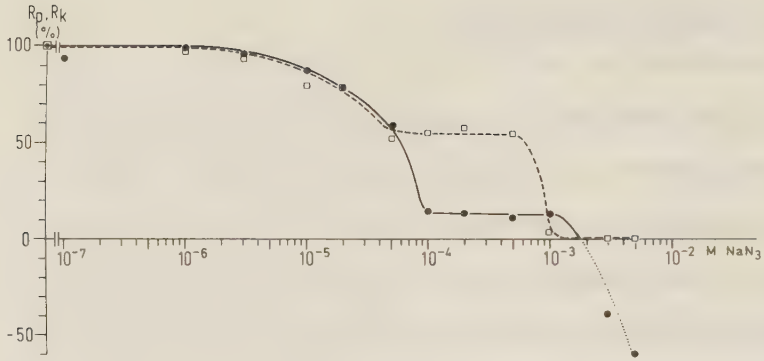


Abb. 50: Wirkung von Natriumazid auf die Photoakkumulation (Kreise und durchgezogene Linie) und auf die Photokinese (Vierecke und gestrichelte Linie). Abszisse (log): Natriumazid-Konzentration in Mol; Ordinate: Reaktionswert der Photoakkumulation (R_p) und der Photokinese (R_k) in Prozent der Kontrolle

Sieht man von diesen unspezifischen Wirkungen hoher Konzentrationen ab, so zeigt sich, daß beide Dosis-Effekt-Kurven aus zwei unterschiedlichen Teilen bestehen: einem Abschnitt im Bereich niederer Konzentrationen bis $5 \cdot 10^{-5}$ M, in dem die verminderte Beweglichkeit ganz offensichtlich die Ursache für die schwächere Fallenansammlung ist, und einem Abschnitt im Bereich mittlerer Konzentrationen ($5 \cdot 10^{-5}$ M bis $5 \cdot 10^{-4}$ M), in dem die phobische Reaktion erheblich stärker gehemmt wird als die Kinese. Dieser Befund ist deshalb besonders bedeutsam, weil im Gegensatz zu den bisher eingesetzten Hemmstoffen (DCMU, DBMIB, DSPD) mit Natriumazid erstmals nachgewiesen werden konnte, daß die phobische Reaktion innerhalb

eines bestimmten Konzentrationsbereiches empfindlicher für den zugesetzten Hemmstoff ist als die Photokinese. Da bei Porphyridium nach den bisherigen Versuchsergebnissen beide Reaktionsweisen an den Elektronenfluß zwischen der Lichtreaktion I und II gekoppelt sind, kann die phobische Reaktion nicht durch die Höhe des ATP-Spiegels in der Zelle gesteuert werden, wie das bei der Photokinese der Fall ist (vergl. Nultsch, 1975). Damit hat die von Links (1955) aufgestellte Theorie, nach der Änderungen in der ATP-Versorgung des Bewegungsapparates zu phobischen Reaktionen führen können, für Porphyridium keine Gültigkeit. Der für die phobische Reaktion limitierende Faktor ist nicht der ATP-Gehalt, sondern die Elektronen-Flußrate zwischen beiden Lichtreaktionen.

6. DISKUSSION

Bei der Untersuchung der phobischen Reaktion mit der Lichtfallen-Methode hängt das Ergebnis entscheidend davon ab, ob es gelingt, alle Faktoren, die die Photoakkumulation überlagern können, zu eliminieren oder zumindest konstant zu halten. Eine wichtige Voraussetzung hierfür ist ein einheitlich reagierendes Versuchsmaterial. "Batch"-Kulturen, bei denen die Algen bei Erreichen einer bestimmten Dichte abgeerntet werden, können diese Bedingung nicht erfüllen, selbst wenn das Versuchsmaterial immer aus der gleichen Wachstumsphase stammt, da bereits während der Log-Phase adaptative Veränderungen der Pigmentzusammensetzung auftreten können (s. Kap. 2.1.2.). Durch homokontinuierliche Anzucht kann diese Fehlerquelle weitgehend beseitigt werden. Außerdem ist wegen der Dauerbelichtung und der gleichmäßigen Suspensionsdichte die Induktion von biorhythmischen Phänomenen nahezu ausgeschlossen.

Eine Pigmentveränderung w ä h r e n d des Versuches hingegen ist gerade bei langer Versuchsdauer nicht zu vermeiden. Gegenkomplementäre chromatische Adaptation ist bereits nach einer Bestrahlung von zwei Tagen nachweisbar. Die Versuchsdauer wurde daher so kurz wie möglich bemessen, konnte aber wegen der geringen Bewegungsgeschwindigkeit und der damit verbundenen langsamen Zunahme der Ansammlungsdichte nicht kürzer als zwei Tage gewählt werden. Um zu verhindern, daß Pigmentveränderungen das Signal des Schwärzungsmessers verfälschen, wurde für das Meßlicht nur der von Pig-

mentveränderungen weitgehend unabhängige IR-Bereich verwendet.

Die Kinetik der Photoakkumulation ist nach dieser Versuchsdauer jedoch nicht bei einem Sättigungswert angelangt, sondern befindet sich etwa in der Mitte der linearen Anstiegsphase (vergl. Abb. 16 und Abb. 41). Bei einem Organismus wie Phormidium, bei dem das Sättigungsniveau bereits nach 8 Stunden erreicht ist (Nultsch, 1962 b; Nultsch und Häder, 1970; Häder, 1973; 1976), kann die Höhe des Sättigungsniveaus durchaus ein geeignetes Maß für die phobische Reaktion sein.

Wenn man annimmt, daß die Organismen in die Lichtfalle nach der Zufallswahrscheinlichkeit eintreten und die Eintrittsrate a sich nicht verändert, dann ist die Dichte D in der Falle zu einem Zeitpunkt n abhängig von der Austrittsrate p, die von der phobischen Wirksamkeit des Fallenlichts abhängt. Vorausgesetzt, daß sich die Reizhöhe und -steilheit am Fallenrand nicht ändert (was de facto allein schon wegen der von D abhängigen Selbstbeschattung und Lichtstreuung nur zum Teil zutrifft) und daß Beweglichkeit und Bewegungsgeschwindigkeit in Falle und Umfeld gleich bleiben, dann ist

$$D_n = a \cdot \frac{p^{n+1} - p}{p - 1} .$$

Durch den Grenzwert

$$\lim_{n \to \infty} D_n = a \cdot \sum_{v=0}^{\infty} p^v = \frac{a \cdot p}{1 - p}$$

wird dann die Höhe des Sättigungsniveaus angegeben, das bei konstantem a nur noch von p abhängig ist. Die Eintrittsrate a kann allerdings durch verschiedene Faktoren beeinflußt werden, vor allem durch eine Änderung der Bewegungsgeschwindigkeit z.B. aufgrund der photokinetischen Wirksamkeit des Fallenlichts, der Wirkung von Hemmstoffen oder durch Phototaxis.

Der Sättigungwert der phobischen Ansammlungsdichte eignet sich bei Porphyridium cruentum aus mehreren Gründen nicht als Maß für die phobische Reaktion:

1. Innerhalb von 2 Tagen wird er nur bei sehr hohen Lichtintensitäten erreicht. Hier besteht wiederum die Gefahr der Lichtschädigung (s.u.) oder des Austrocknens der Agarschicht. Bei Versuchen mit monochromatischem Licht sind solche Energien besonders im Blau-Bereich nicht zu erreichen.

2. Bei niedrigen Intensitäten wird auch nach 9-tägiger Versuchszeit trotz stetiger Zunahme der Fallendichte keine Sättigung erreicht.

3. Bei mittleren Intensitäten (3000 - 10 000 Lux) konnte nachgewiesen werden, daß sich der Sättigungswert nicht verändert.

4. Bei veränderten Versuchsbedingungen (andere Intensität oder Wellenlänge, bei Hemmstoffversuchen u.s.w.) muß jeweils sicher gestellt werden, daß das Sättigungsniveau erreicht ist.

Der Übergang von Schwachlicht (oder Dunkel-) zu Starklichtbedingungen führt bei vielen Algen zu einer Hemmung der Photosynthese (s. Myers and Burr, 1940; Kok, 1956; Steemann Nielsen, 1962). Der gleiche Effekt wurde auch bei Porphyridium beobachtet: trotz gesteigerter Atmung (Brody and Emerson, 1959; French and Fork, 1963) sinkt der ATP-Gehalt dunkeladaptierter Zellen nach Starklichtbestrahlung ab (Bornefeld, 1976). Da die phobische Reaktion bei Porphyridium eng mit der Photosynthese gekoppelt ist, ist zu erwarten, daß die Photoakkumulation umso stärker gehemmt wird, je höher die eingestrahlte Lichtenergie ist. In der Tat nimmt die Ansammlungsdichte zumindest bei kurzer Versuchsdauer ($<$ 48 h) oberhalb von 10^4 Lux mit steigender Intensität wieder ab (s. Abb. 18), so daß einige Dosis-Effekt-Kurven die Form von Optimumskurven besitzen.

Die Photokinese wird zwar wie die phobische Reaktion durch die Hemmung der Photosynthese betroffen. Die Verminderung der Ansammlungsdichte im Starklicht kann dennoch nicht maßgeblich auf die Hemmung der Beweglichkeit zurückgeführt werden, weil die verringerte Bewegungsgeschwindigkeit in der Lichtfalle eine h ö h e r e Ansammlungsdichte zur Folge haben müßte ('motility artefact' nach Clayton, 1957).

Langfristig jedoch wird ein gegenläufiger Prozess wirksam, so daß auch im Starklichtbereich eine Intensitätserhöhung zu größerer Fallendichte führt.

Eine entsprechende, als Adaptation verstandene Umstellung der Photosyntheseleistung ist bei Cyclotella nach einem Tag (Jørgensen, 1964) bei Chlorella nach ca. 2 Tagen (Steemann Nielsen, 1962) abgeschlossen. Bei Porphyridium läßt sich eine Änderung der photosynthetischen Quantenwirksamkeit bereits nach 3 bis 4 Stunden nachweisen (Brody and Brody, 1962). Möglicherweise ist die Erhöhung der phobischen Reaktionsfähigkeit im Starklichtbereich zumindest bei den Zellen, die sich ausreichend lange in der Lichtfalle befinden, mit der Adaptation der Photosynthese verbunden.

Die Aufrechterhaltung der Beweglichkeit ist bei Organismen, die wie Porphyridium im Dunkeln bewegungslos sind, besonders wichtig. Bei Versuchen ohne Hintergrundbeleuchtung bleiben nur die Zellen im Fallenumfeld beweglich, für die das Streulicht der Lichtfalle eine positive photokinetische Wirksamkeit besitzt. Die Eintrittsrate a wird dadurch entsprechend der photokinetischen Wirksamkeit des Fallenlichts mehr oder weniger stark vermindert. Wenn beim Verlassen eines Lichtfeldes, in dem die Zellen gut beweglich sind, keine phobischen Reaktionen ausgelöst werden, kommt es zwangsläufig zu Fallenentleerungen. Bei Porphyridium besitzen Fallenlichtwellenlängen oberhalb von 695 nm keine phobische (vergl. Abb. 25, 36), aber gute photokinetische Wirksamkeit (vergl. Nultsch, 1975)

Die Fallenentleerungen in Abb. 22 und Abb. 23 können deshalb nicht auf phobische Eintrittsreaktionen zurückgeführt werden. Sie sind offensichtlich das Ergebnis positiver Photokinese. Hierfür spricht auch die Tatsache, daß durch Einstrahlung eines roten oder blauen Hintergrundlichts niedriger Intensität dieser photokinetische Effekt aufgehoben werden kann. Zudem konnten bei Porphyridium auch unter anderen Bedingungen keine eindeutig negativen phobischen Reaktionen beobachtet werden, die bei vielen Organismen z.B. im Starklicht (Rhodospirillum: Throm, 1967; Chromatium: Schlegel, 1956; Oscillatoria: Schmid , 1923; Navicula-Arten: Nultsch, 1959; Euglena: Oltmanns, 1917; Physarum: Białczyk and Rakoczy, 1975) beobachtet wurden, oder bei bestimmten Wellenlängenkombinationen (Häder, 1973; Häder and Nultsch, 1973; Nultsch und Häder, 1974) oder bei Verwendung von Hemmstoffen auftreten können (Häder, 1974; 1976).

Während der Einfluß der Photokinese auf die Fallendichte durch Einstrahlung eines roten Hintergrundlichtes aufgehoben wird, werden gleichzeitig der Randeffekt und diffuse Ansammlungshöfe um die Lichtfallen in stärkerem Maß als bei dunklem Hintergrund ausgebildet, was offensichtlich auf die bessere Beweglichkeit der Algen im Fallenumfeld zurückzuführen ist. Die Hofbildung, die bei Fallenwellenlängen um 500 nm am stärksten ist, beruht auf der phototaktischen Anlockung von Zellen im Fallenumfeld durch das in der

Lichtfalle entstehende Streulicht. Hierfür spricht insbesondere:

1. Selbst in größerer Entfernung von der Lichtfalle lassen sich konzentrisch um die Lichtfalle angeordnete Ansammlungsringe erkennen (s. Tafel 4.4), die offensichtlich bei der orientierten Bewegung zur Lichtfalle hin entstanden sind.
2. Die Maxima in den Aktionsspektren der Photoakkumulation in Abb. 23 und Abb. 25 stimmen mit dem Hauptmaximum im Spektrum der phototaktischen Wirksamkeit von 560 pE . cm^{-2} . s^{-1} (Abb. 33) überein.
3. Bei Einstrahlung von blauem Hintergrundlicht wird kein diffuser Ansammlungshof mehr ausgebildet.

Gleichzeitig nimmt die Quantenwirksamkeit in dem Bereich zwischen 503 nm und 512 nm entscheidend ab, in dem die Phototaxis ihr Maximum besitzt. Das Hauptmaximum der Photoakkumulation wird dadurch in den Bereich der stärksten Phycoerythrinabsorption verschoben.

Die Frage, welches Pigment als Photorezeptor der Phototaxis bei Porphyridium fungiert, kann nach den vorliegenden Versuchen nicht eindeutig beantwortet werden. In den Absorptionsspektren ganzer Zellen (s. Abb. 2, 4), eines wässrigen Gesamtextraktes (Gense et al., 1969; Brody and Emerson, 1959; nicht jedoch bei O'hEocha, 1955), desgleichen in Spektren von Phycobilisomenpräparationen (Gantt and Lipschultz, 1974; Glazer and Hixson 1977) findet sich

um 500 nm eine deutliche Schulter oder ein Nebenmaximum. O'Carra und O' hEocha (1976) und Glazer und Hixson (1977) konnten zeigen, daß an der Absorption um 500 nm maßgeblich das Phycourobilin beteiligt ist, welches in dem aus $(\alpha\beta)_6\,\gamma$ zusammengesetzten B-Phycoerythrin in geringer Menge nur in der γ-Untereinheit vorkommt, im R-Phycoerythrin der Florideen wahrscheinlich in größerer Menge. Es bereitet allerdings nach der heutigen Kenntnis vom Bau der Phycobilisomen erhebliche Schwierigkeiten, sich vorzustellen, wie bei der engen räumlichen Anordnung der Biliproteine nur ganz bestimmte Untereinheiten angeregt werden können, ohne daß die anderen durch die gleiche Strahlung oder durch Energieübertragung ebenfalls miteinbezogen werden. Freie, nicht an Phycobilisomen gebundene Phycobiline sind bei Porphyridium nicht nachgewiesen, aber auch nicht völlig ausgeschlossen worden (Ley et al., 1977).

Nach Goedheer (1969) ist das bei 500 nm absorbierende Pigment nicht Wasser- und Methanol-, aber Petroläther- löslich. Daher vermutet er, daß es sich um das β-Carotin handelt, das er aufgrund der Fluoreszenzsteigerung bei 720 nm dem Photosystem I zuordnet. Carotinoide bzw. Carotinoproteine werden als Photorezeptoren der Phototaxis bei verschiedenen Algen diskutiert (Übersicht: s. Nultsch, 1975). Der Bereich um 500 nm erweist sich in fast allen Aktionsspektren der Phototaxis als besonders wirksam (z.B. bei Chlamydomonas: Nultsch et al., 1971; bei Volvox:

Schletz, 1975; bei Euglena: Bünning und Schneiderhöhn, 1969; Checcucci et al., 1976). Während bei Euglena in letzter Zeit zunehmend die Flavoproteine als Photorezeptoren favorisiert werden (Diehn and Kint, 1970; Checcucci et al., 1976), bleibt die Frage nach der chemischen Natur bei den anderen Algen nach wie vor offen. Die Tatsache, daß sich selbst innerhalb der gleichen Algengruppe die Aktionsspektren stark unterscheiden (z.B. bei Dinoflagellaten, s. Halldal, 1958; 1963), weist darauf hin, daß die Frage nach dem Photorezeptor der Phototaxis nicht allgemein beantwortet werden kann.
Bei den Biliprotein-haltigen Algen sind in allen bisher untersuchten Fällen (Phormidium: Nultsch, 1961; 1963; Cryptomonas: Watanabe and Furuya, 1974; Watanabe et al., 1976) Biliproteine neben Carotinoiden und (oder) anderen Blaulicht- bzw. UV-Rezeptoren nachgewiesen worden. Porphyridium, bei dem die Biliproteine als Photorezeptoren der Phototaxis aller Wahrscheinlichkeit nach ausscheiden (s. Abb. 33; vergl. auch Hill and Sommerfeld, 1977), scheint in dieser Gruppe eine Ausnahme zu bilden.

Nach der Beseitigung aller Faktoren, die zu einer Überlagerung oder Verfälschung der Photoakkumulation führen, konnte ein Aktionsspektrum ermittelt werden, das ausschließlich die spektrale Quantenwirksamkeit der phobischen Reaktion wiedergibt. Alle an der Steuerung der phobischen Reaktion beteiligten Pigmente -

Biliproteine, Chlorophyll, Carotinoide (s.S.70) - sind photosynthetisch aktiv. Obwohl die Biliproteine dem Photosystem II (= PS II), der Großteil des Chlorophylls (>95 %, nach Ley and Butler, 1976) und der Carotinoide dem PS I zugerechnet werden, bedeutet dies nicht, daß die von diesen Pigmentgruppen aufgefangene Energie jeweils ausschließlich an die entsprechenden Reaktionszentren I bzw. II weitergeleitet wird. Es muß vielmehr davon ausgegangen werden, daß zwischen PS II und PS I ein Energietransfer ("spill over") möglich ist, so daß Licht, das von PS II-Pigmenten absorbiert wird, in der Lage ist, auch das Reaktionszentrum I anzuregen. Dementsprechend kommt bei der Photosynthese unter Bedingungen, bei denen spill over auftritt, die Wirksamkeit des von Biliproteinen absorbierten Lichts in den Aktionsspektren der Lichtreaktion I (= LR I) zum Ausdruck, wenn auch in geringerem Maß als in dem der LR II (Ried et al., 1977; s. Abb. 52). Demgegenüber ist im Aktionsspektrum des PS I keine Aktivität von Biliproteinen nachweisbar (Abb. 51).
Der Energietransfer zwischen den Pigmenten von PS II und PS I erlangt bei Blau- und Rotalgen besondere Bedeutung, scheint aber allgemein verbreitet zu sein (s. Satoh et al., 1976; im Gegensatz dazu: Joliot et al., 1968). Für Porphyridium cruentum ist eine solche lichtgesteuerte Kontrolle des Energietransfers, durch die die Photosyntheseleistung gesteigert wird, bereits 1969 von Murata beschrieben worden.

Die von B- und b- Phycoerythrin absorbierte Energie wird nach Ley und Butler,(1976);Ley et al.,(1977)über Phycocyanin und Allo-Phycocyanin an das Allo-Phycocyanin B weitergegeben, das sich an der Berührungsstelle von Phycobilisom und Thylakoid befinden soll und die Energie an das Chlorophyll weiterleitet. Die Steuerung des Energietransfers erfolgt wahrscheinlich zwischen den Chlorophyllmolekülen (Ley and Butler, 1976; Larkum and Weyrauch, 1977). Ein entsprechendes Modell, bei dem einige Chlorophyllmoleküle in der Nähe von PS II eine Schalterfunktion durch Änderung ihrer räumlichen Orientierung in der photosynthetischen Einheit zukommen könnte, hat Seely (1973) theoretisch begründet.

Über die Regulierung des Energietransfers bestehen verschiedene Modellvorstellungen. Möglicherweise erfolgt sie über einen feedback-Mechanismus, (s. Ley et al., 1977; Ried and Reinhardt, 1977). Ioneninduzierte Änderungen des Energietransfers und der Membranstrukturen des Rhodoplasten sind für Porphyridium von Clément - Metral et al., (1972) nachgewiesen worden. Die Bedeutung des spill over besteht darin, daß die absorbierte Lichtenergie den Reaktionszentren beider Lichtreaktionen so zugeleitet werden kann, daß beide möglichst wirkungsvoll arbeiten können, ein Effekt, der sich besonders dann gut erreichen läßt, wenn die photosynthetischen Einheiten von PS I und PS II so unterschiedlich wie bei Blau- und Rotalgen zusammengesetzt sind.

Bei der engen Kopplung der phobischen Reaktion an die Photosynthese ist zu erwarten, daß sich der Einfluß des spill over auch im Aktionsspektrum der phobischen Reaktion erkennen läßt, zumal sich die Pigmente b e i d e r Photosysteme als wirksam erwiesen haben. Eine Steuerung der phobischen Reaktion ausschließlich über das PS I, das PS II oder die LR II scheidet damit aus. Drei Möglichkeiten sind denkbar:

1. Die phobische Reaktion ist nur an die LR I gekoppelt. Durch den Energietransfer wird auch das durch PS II absorbierte Licht wirksam (s. Abb. 52). Allerdings wird unter steady state -Bedingungen nur ca. die Hälfte der von PS II absorbierten Lichtenergie auf das Reaktionszentrum I übertragen (Ley and Butler, 1976), so daß die vom Chlorophyll absorbierten Wellenlängen die stärkste Wirksamkeit besitzen (s. Abb. 52). Da das Chlorophyll im Vergleich zu den Biliproteinen bei der Steuerung der phobischen Reaktion nur eine untergeordnete Rolle spielt (vergl. Abb. 36), ist diese erste Möglichkeit wenig wahrscheinlich.
2. Die phobische Reaktion wird durch das Zusammenwirken von PS I und PS II gesteuert. Dabei können beide Photosysteme das phobische Reaktionsverhalten durchaus gegensinnig beeinflussen, wie Häder (1973), Nultsch und Häder (1974) bei Phormidium uncinatum nachgewiesen haben. Bei dieser Blaualge werden dann phobische Reaktionen und Bewegungsumkehr ausgelöst, wenn ein

Trichom aus der Dunkelheit oder aus einem PS II-Lichtfeld in starkes PS I-Licht gerät. Hieraus schließen Häder und Nultsch, daß die Steuerung der phobischen Reaktion nicht direkt durch die Lichtreaktion selbst, sondern durch eine beim Plastochinon vermutete pool - Größe erfolgt. Elektronenabzug aus dem pool bewirkt eine Verminderung des "Füllungspegels" und führt demnach zur Umkehr der Bewegungsrichtung. Allerdings konnten Entleerungen bei Einstrahlung von Licht aus dem Absorptionsbereich der Soretbande des Chlorophylls nicht erzielt werden, obwohl auch bei Blaualgen der größte Teil des Chlorophylls (84 % bei Anacystis nidulans, nach Wang und Myers, 1977) dem PS I zugerechnet wird, und bei Phormidium luridum das Maximum der PS I -Aktivität in diesem Bereich sogar höher ist als das oberhalb von 700 nm (Tel-Or and Malkin, 1977).
Der "Phormidium-Typ" ist auf Porphyridium aus mehreren Gründen nicht anwendbar.

a. Die Summe der photosynthetischen Aktionsspektren von PS I und PS II (Abb. 51) unterscheidet sich in der relativen Höhe der einzelnen Maxima eindeutig von dem Aktionsspektrum der phobischen Reaktion (Abb. 36).

b. Fallenentleerungen konnten bei Porphyridium auch in sehr energiereichem PS I-Fallenlicht (723 nm, 11,2 nE . cm^{-2} . s^{-1}) nicht erreicht werden (s. S. 54).

c. Hemmstoffe, die in den nichtzyklischen Elektronentransport eingreifen und bei Phormidium einen Umschlag von Fallenansammlung zu Fallenentleerung bewirken können (Häder, 1973; 1974), führen bei Phorphyridium zu einer Hemmung der Bewegungsgeschwindigkeit, nie aber zu echten Fallenentleerungen. (Umschlagspunkt bei Phormidium: $1 \cdot 10^{-8}$ M DBMIB; Fallenansammlung von 100 % der Kontrolle und unverminderte Photokinese bis $3 \cdot 10^{-7}$ M DBMIB, positive Reaktionen bis $1 \cdot 10^{-5}$ M DBMIB bei Porphyridium).

3. Phobische Reaktionen werden dann ausgelöst, wenn die - durch einen variablen Energietransfer von PS II nach LR I optimal eingestellte - Flußrate der Elektronen im nichtzyklischen (oder pseudozyklischen) Elektronentransport zwischen LR II und LR I vermindert wird. Beide Lichtreaktionen wirken hierbei g l e i c h s i n n i g auf die Steuerung, so daß die S u m m e der Aktionsspektren von LR I und LR II dem der phobischen Reaktion entsprechen müßte. Der Vergleich des entsprechenden Summenspektrums in Abb. 52 mit dem Aktionsspektrum der phobischen Reaktion zeigt, daß das tatsächlich in großem Umfang der Fall ist, obwohl es sich nicht um den gleichen Organismus handelt. Der wesentliche Unterschied zu dem Summenspektrum von PS I + PS II besteht darin, daß die Biliproteine außer in der LR II durch spill over auch in der LR I wirksam

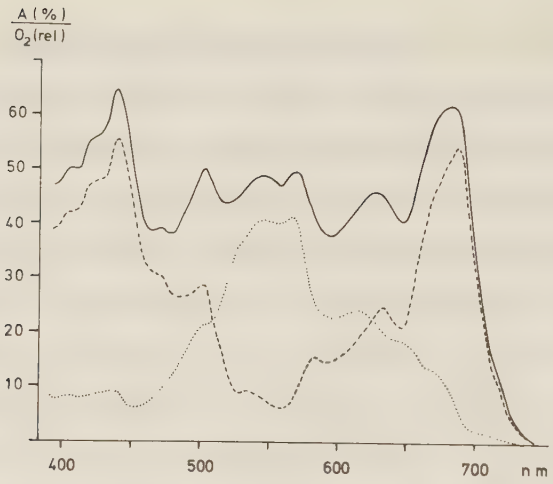


Abb. 51: Aktionsspektrum von PS I (gestrichelt), PS II (gepunktet) und die Summe beider (durchgezogen) von Porphyra umbilicalis (nach Ried et al., 1977; verändert)

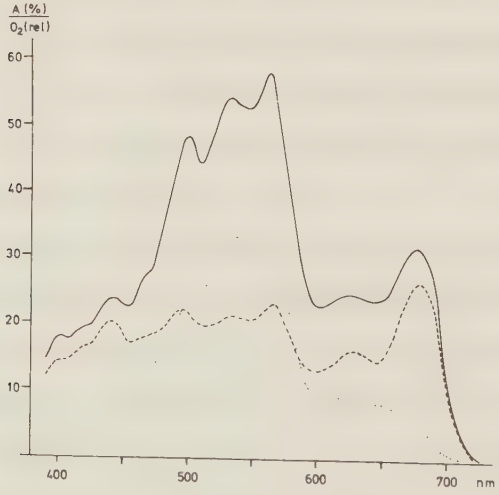


Abb. 52: Aktionsspektrum der LR I (gestrichelt), LR II (gepunktet) und die Summe beider (durchgezogen) von Cryptopleura ramosa (nach Ried et al., 1977; verändert)

werden, so daß sie insgesamt den übrigen Photosynthesepigmenten gegenüber deutlich dominieren.

In starkem PS I-Licht (z.B. 434 nm) liegt der größte Teil der Reaktionszentren von PS I im oxidierten Zustand vor. Durch Einstrahlung eines schwachen Zusatzlichtes werden dann die meisten Reaktionszentren "geöffnet", wenn es die LR II anregt. Unter diesen Bedingungen ist die Elektronen-Flußrate am höchsten. Wenn die oben beschriebene Vorstellung von der Steuerung der phobischen Reaktion richtig ist, müßte die Ansammlungsdichte in einer LR I-Lichtfalle dann am stärksten sein, wenn PS II-Licht in den Hintergrund eingestrahlt wird.

Erwartungsgemäß entspricht das in Abb. 30 dargestellte Spektrum der Wirksamkeit des Hintergrundlichtes auf die Ansammlungsdichte einer konstant gehaltenen Lichtfalle (434 nm, 1350 pE . cm^{-2} . s^{-1}) dem Aktionsspektrum von PS II (vergl. Ried et al., 1977).

Es ist anzunehmen, daß bei einer Steuerung der phobischen Reaktion nach dem "Porphyridium-Typ" Hemmstoffe wie DCMU und DBMIB, die den Elektronentransport zwischen beiden Lichtreaktionen blockieren, gleichzeitig auch die phobische Reaktionsfähigkeit hemmen.
Da aber die Versorgung des Bewegungsapparates bei Porphyridium ebenfalls an die Flußrate im nicht- bzw. pseudozyklischen Elektronentransport gekoppelt ist, wird gleichzeitig die Be-

wegungsgeschwindigkeit gehemmt. Es kann daher nicht eindeutig entschieden werden, ob die Verminderung der Ansammlungsdichte nur eine Folge der Photokinese-Hemmung oder auch einer Hemmung der phobischen Reaktion ist. Ein Umschlag von positiven zu negativen Reaktionen bei DBMIB-Konzentrationen zwischen 10^{-8} M und 10^{-5} M, den Häder (1975) bei Phormidium uncinatum beschrieben hat, konnte bei Porphyridium nicht beobachtet werden. Die Interpretation dieses Umschlages bereitet aber auch nach der Elektronenpool-Hypothese Schwierigkeiten, da die Annahme, DBMIB könne den Elektronenfluß beschleunigen, nur für niedrige Konzentrationen zutrifft. (Böhme et al., 1971). Außerdem ist die Zugabe von $DCPIP_{ox}$ notwendig, das den DBMIB-Block in einem künstlichen bypass umgeht.

Durch die Blockierung des nicht-zyklischen und evtl. des pseudozyklischen Elektronentransports durch DCMU und DBMIB werden gleichzeitig die entsprechenden ATP-Bildungsstellen gehemmt. Die zyklische Photophosphorylierung, die bereits bei niedrigen Intensitäten gesättigt ist und in vivo möglicherweise völlig durch die pseudozyklische Photophosphorylierung ersetzt wird (Heber, 1969, 1973; Raven, 1969, 1975; Murata, 1970; Biggins, 1973), kann in vivo nur ablaufen bei O_2-Abschluß bzw. bei einer Hemmung des PS II (Kaiser and Urbach, 1976).

Dafür spricht auch die geringe Empfindlichkeit der Photokinese gegenüber DSPD. Wenn bei DCMU-Konzentrationen, bei denen mit der Impffleckmethode keine Beweglichkeit mehr nachgewiesen werden kann (bei $1 \cdot 10^{-5}$ M), sich dennoch bei mikroskopischer Kontrolle einzelne Zellen als beweglich erweisen (s.S. 86), so kann das nicht auf die zyklische Photophosphorylierung zurückgeführt werden, da DCMU in dieser Konzentration auch den zyklischen Elektronentransport hemmt (Gingras et al., 1963; van Rensen 1969; Bedell and Govindjee, 1973; Good and Izawa, 1973; Bornefeld and Simonis, 1974). Möglicherweise sind einzelne Zellen, die sich in einem bestimmten Entwicklungsstadium befinden, für DCMU weniger empfindlich (Scenedesmus: s. Frickel-Faulstich, 1974; Schäfer, 1975).

Während die Wirkung von Azid auf die oxidative Phosphorylierung unbestritten ist (vergl. auch Diehn and Tollin, 1967) und auf eine Hemmung der Cytochromoxidase zurückgeführt wird (Ausnahmen sind Chlamydomonas: Stavis, 1974; Mougeotia: Schönbohm, 1969), ist die Wirkung auf die Photophosphorylierung bzw. den photosynthetischen Elektronentransport sehr unterschiedlich beurteilt worden. Lange Zeit wurde eine Entkopplerfunktion vermutet (Übersicht: Hewitt and Nicholas, 1963). Auch die Befunde von Simonis (1964), Nultsch (1967) und Schönbohm (1969) sprechen für diese Annahme. Yamashita et al., (1969) und Katoh et al., (1972) nehmen eine Unterbrechung

des Elektronentransportes auf der Donorseite von PS II an. Neuere Untersuchungen zeigen allerdings, daß Natriumazid bei isolierten Chloroplasten weder den Elektronentransfer zwischen Wasser und NADP, noch die Photophosphorylierung hemmt (Avron and Gibbs, 1974 a). Trotzdem wird der CO_2-Einbau bereits durch 10^{-5} M um 50 % vermindert (Avron and Gibbs, 1974 b). Da die CO_2-Dunkelfixierung nicht gehemmt wird, führen Avron und Gibbs (1974 b), Bamberger und Avron (1975) die Wirkung von Azid auf eine Hemmung der Carboanhydrase zurück, die bei verschiedenen Pflanzen- und Tiergruppen den Transport von CO_2/HCO_3^- durch Biomembranen beschleunigt (Bowes, 1969). Forti und Gerola (1977) konnten in jüngster Zeit nachweisen, daß Azid die Katalase hemmt, die das in einer Mehler-Reaktion entstandene H_2O_2 sofort wieder zerlegt. Da diese O_2-Reduktion auch in vivo (Patterson and Myers, 1973) am Ende des pseudozyklischen Elektronentransports unter steady-state-Bedingungen dann auftritt, wenn die Lichtintensität ratenlimitierend wird, liegt die Bedeutung dieser Reaktion darin, die für die CO_2-Fixierung notwendige, auf dem nichtzyklischen Weg aber nicht ausreichend gebildete ATP-Menge zu ergänzen und somit den nichtzyklischen Elektronentransport und die CO_2-Fixierung wieder in Gang zu setzen.

Wird als Ergebnis einer Azid-abhängigen Katalasehemmung H_2O_2 angehäuft, so werden dadurch H_2O_2-empfindliche Enzyme des Calvinzyklus (Triosephosphat-Dehydrogenase und 3PGA-Kinase) gehemmt (Forti and Gerola, 1977), darüber hinaus möglicherweise auch die Carboanhydrase,

so daß das CO_2-reduzierende System insgesamt betroffen ist. Eine indirekte Wirkung des Azids auf den Calvin-Zyklus hatten auch Bedell und Govindjee (1973) vermutet. Der Mangel an reduzierbarem NADP führt zu einem geringeren Elektronenfluß und zu verminderter O_2-Produktion (Forti and Gerola, 1977). Hierdurch wiederum wird die phobische Reaktionsfähigkeit stark vermindert. Es bleibt aber eine Azid-resistente Restreaktion von 13 %, die darauf hindeutet, daß zwischen LR II und LR I noch ein, wenn auch verminderter Elektronenfluß stattfindet. Da das CO_2-reduzierende System als Hauptkonsument des photosynthetisch gebildeten ATP durch die Azid-Wirkung ausfällt, kann die pseudozyklische Photophosphorylierung die Beweglichkeit in viel höherem Maß (55 %) aufrechterhalten, als nach der Elektronenflußrate bei intaktem Calvin-Zyklus zu erwarten wäre. Die dem Bewegungsapparat von Porphyridium zur Verfügung stehende ATP-Menge hängt demnach nicht nur von der Elektronenflußrate vor allem des nichtzyklischen und pseudozyklischen Elektronentransports ab, sondern auch von der Stoffwechselaktivität anderer ATP-verbrauchender Prozesse. Sie beeinflußt zwar direkt die Bewegungsgeschwindigkeit, ist aber an der Steuerung der phobischen Reaktion nicht beteiligt. Die unterschiedliche Wirkung von Azid auf die Photokinese und die Photoakkumulation bestätigt die Vorstellung, daß bei Porphyridium phobische Reaktionen dann ausgelöst werden, wenn der (z.T. durch spill over) optimal eingestellte Elektronenfluß zwischen LR II und LR I gestört wird.

Die Tatsache, daß zwischen der Reizperzeption und der ersten sichtbaren Reaktion ein relativ langer Zeitraum - meist 10 und mehr Minuten - liegt (s.Tafel 1.3), läßt vermuten, daß zwischen beiden Vorgängen komplizierte Zeit-limitierende Prozesse ablaufen. Die Ursache hierfür könnte darin liegen, daß die Informationsübertragung bei Eukaryonten wegen der starken Kompartimentierung nicht so einfach wie bei Prokaryonten erfolgen kann. Da viele eukaryontische Flagellaten aber innerhalb sehr kurzer Zeit (z.B. Chlamydomonas: stop response nach 0.03-0,1 s; Feinleib, 1974) auf eine Intensitätsveränderung reagieren, ist ein Zusammenhang mit der langsam gleitenden Bewegungsweise wahrscheinlicher. Die Änderung der Polarität sich bewegender Zellen (vergl. Lin et al., 1975) und die Schleimproduktion kommen als Zeit-limitierende Faktoren in Betracht. Ohne genauere Kenntnisse über den Bewegungsmechanismus und die phobische Reaktionsweise kann diese Frage nicht geklärt werden.

7. ZUSAMMENFASSUNG

1. An der Rotalge Porphyridium cruentum wird die Ansammlung in einer Lichtfalle untersucht. Da sich die Pigmentzusammensetzung bereits in der logarithmischen Wachstumsphase einer Durchlüftungskultur stark verändert, wird mit homokontinuierlich gezogenen Material gearbeitet.

2. Die mit einer modifizierten Lichtfallenmethode erhaltenen Dosis-Effekt-Kurven für Weißlicht zeigen einen je nach Versuchsdauer unterschiedlichen Verlauf. Bei niedrigen Intensitäten steigt die Ansammlungsdichte proportional zur Weißlicht-Intensität. Die anfängliche Starklicht-Hemmung der Photoakkumulation wird - wahrscheinlich durch Adaptation - nach längerer Versuchszeit z.T. wieder rückgängig gemacht.

3. Bei Bestrahlung mit monochromatischem Licht (560 pE . cm^{-2}. s^{-1}) ist nach zweitägiger Versuchsdauer eine gegenkomplementäre chromatische Adaptation nachweisbar. Zellvermehrungen treten im Agar nach dieser Zeit nicht auf.

4. Fallenentleerungen sind bei Porphyridium das Ergebnis positiver Photokinese. Sie treten auf, wenn photokinetisch wirksames, aber photophobisch unwirksames Fallenlicht oberhalb von 695 nm in ein dunkles Umfeld eingestrahlt wird. Eine zusätzliche homogene Bestrahlung der ganzen Versuchsschale mit schwachem Rot- oder Blaulicht hebt diesen 'motility artefact' auf.

5. In den Versuchen mit rotem Hintergrundlicht ist die Bildung eines phototaktischen Ansammlungshofes stärker als in Versuchen ohne Hintergrundlicht, was auf die Aufhebung der Dunkelstarre der im Fallenumfeld befindlichen Organismen zurückzuführen ist. Das Spektrum der phototaktischen Quantenwirksamkeit läßt auf einen Rezeptor im Blau- bis Blaugrün-Bereich schließen. Bei blauem Fallenlicht entsteht außerdem eine schmale Zone hoher Ansammlungsdichte am Fallenrand. Für diesen "Randeffekt" sind zwei unterschiedliche Photorezeptoren verantwortlich.
6. Die Überlagerung der Photoakkumulation durch Photokinese, Phototaxis und den Randeffekt läßt sich durch Einstrahlen eines blauen Hintergrundlichtes aufheben. Das Aktionsspektrum belegt die Beteiligung aller photosynthetisch aktiven Pigmente an der Steuerung der phobischen Reaktion. Besonders wirkungsvoll ist Fallenlicht, das von den zum PS II gehörenden Biliproteinen gut absorbiert wird. Für die Kopplung der phobischen Reaktion an den photosynthetischen nichtzyklischen bzw. pseudozyklischen Elektronentransport spricht auch der Vergleich mit den Aktionsspektren beider Lichtreaktionen bei verschiedenen Rotalgen. Aus den Ergebnissen läßt sich folgende Vorstellung von der Steuerung der phobischen Reaktion ableiten: phobische Reaktionen werden dann ausgelöst, wenn die Elektronenflußrate

zwischen LR II und LR I vermindert wird. Damit unterscheidet sich dieser "Porphyridium-Typ" von dem "Phormidium-Typ", bei dem phobische Reaktionen durch Absinken des "Füllungspegels" eines Elektronenpools ausgelöst werden.

7. Photokinese, Phototaxis, Photoakkumulation und Photosynthese werden durch DCMU in gleichem Maße gehemmt. Die vollständige Hemmung bei $2 \cdot 10^{-6}$ M zeigt, daß die zyklische Photophosphorylierung und die oxidative Phosphorylierung für die Aufrechterhaltung der Beweglichkeit keine Rolle spielen. Fallenaufhellungen bei hohen Konzentrationen und Lichtintensitäten sind nicht die Folge von phobischen Eintrittsreaktionen, sondern von Pigmentausbleichung und Zellzerstörung.
8. Auch bei DBMIB und DSPD unterscheidet sich die Dosis-Effekt-Kurve der Photoakkumulation nicht von der der Photokinese. Während DBMIB bereits in niedrigen Konzentrationen starke Hemmwirkung zeigt, wirkt das vor allem den zyklischen Elektronentransport hemmende DSPD erst bei sehr hohen Konzentrationen. Hierin ist ein weiterer Beleg für die geringe Bedeutung der zyklischen Photophosphorylierung für die Photokinese zu sehen.
9. Die Photoakkumulation wird durch Natriumazid zwischen 10^{-4} M und 10^{-3}M erheblich stärker gehemmt als die Photokinese. Das wird darauf zurückgeführt, daß durch die Blockierung des Calvinzyklus der nichtzyklische Elektronentransport weitgehend gehemmt ist. Trotz der verminderten Elektronenflußrate des vorwiegend

pseudozyklischen Elektronentransports kann die Bewegungsfähigkeit deshalb gut aufrecht erhalten werden, weil der Calvinzyklus als Hauptkonsument des photosynthetisch gebildeten ATP wegfällt. Die im Vergleich zur Photokinese höhere Empfindlichkeit der Photoakkumulation gegenüber Azid wird als Beleg dafür angesehen, daß nicht der ATP-level, sondern die Elektronenflußrate für die Auslösung von phobischen Reaktionen maßgeblich ist.

8. LITERATURVERZEICHNIS

Amesz, J.: The function of plastoquinone in photosynthetic electron transport
Biochim. Biophys. Acta 301, 35-51 (1973)

Amesz, J., M.P. Pulles, J.W.M. Visser and F.A. Sibbing: Reactions of b-cytochrome in the red alga Porphyridium aerugineum
Biochim. Biophys. Acta 275, 442-452 (1972)

Avron, M. and M. Gibbs: Properties of phosphoribulokinase of whole chloroplasts
Plant. Physiol. 53, 136-139 (1974 a)

Avron, M. and M. Gibbs: Carbon dioxide fixation in the light and in the dark by isolated spinach chloroplasts
Plant. Physiol. 53, 140-143 (1974 b)

Bauer, R. and M.J.G. Wijnands: The inhibition of photosynthetic electron transport by DBMIB and its restoration by p-phenylene-diamines; studies by means of prompt and delayed chlorophyll fluorescence of green algae
Z. Naturforsch. 29 c, 725-732 (1974)

Bedell, G.W. II and Govindjee: Photophosphorylation in intact algae: effect of inhibitors, intensity of light, electron acceptors and donors
Plant Cell Physiol. 14, 1081-1097 (1973)

Białcyk, J. and L. Rakoczy: Phototaxis of myxomycetes - behaviour of old plasmodia in white light
Bull. Acad. Polon. Sci. 23, 571-575 (1975)

Biggins, J.: Kinetic behaviour of cytochrome f in cyclic and noncyclic electron transport in Porphyridium cruentum
Biochem. 12, 1165-1170 (1973)

Biggins, J.: The role of plastoquinone in the in vivo photosynthetic electron pathway in algae
FEBS Letters 38, 311-314 (1974)

Böhme, H., S. Reimer and A. Trebst: On the role of plastoquinone in photosynthesis. The effect of dibromothymoquinone, an antagonist of plastoquinone, on noncyclic and cyclic electron flow systems in isolated chloroplasts
Z. Naturforsch. 26 b, 341-352 (1971)

Bornefeld, T.: The rates of photophosphorylation of the blue-green alga Anacystis nidulans at transition from dark to light. I. Rates under conditions of cyclic, pseudo-cyclic, and non-cyclic electron flow and in the presence and absence of DCMU [3(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea] and desaspidin
Biochem. Physiol. Pflanz. 170, 333-344 (1976)

Bornefeld, T. and W. Simonis: Effects of light, temperature, pH, and inhibitors on the ATP level of the blue green alga Anacystis nidulans
Planta (Berlin) 115, 309-318 (1974)

Bothe, H.: Relationship between nitrogen-fixation and photosynthesis in blue-green algae
In: Photosynthesis, two centuries after its discovery by Joseph Priestley, Proc. 2. Intern. Congr. Photosynth. Res., Stresa 1971, Vol. III (G. Forti, M. Avron and A. Melandri eds.), 2169-2178, Dr. W. Junk N.V. Publishers, The Hague (1972)

Bottomley, P.J. and W.D.P. Steward: ATP pools and transients in the blue-green alga, Anabaena cylindrica
Arch. Microbiol. 108, 249-258 (1976)

Bowes, G.W.: Carbonic anhydrase in marine algae
Plant Physiol. 44, 726-732 (1969)

Brody, M. and S.S. Brody: Induced changes in the photosynthetic efficiency of Porphyridium cruentum
Arch. Biochem. Biophys. 96, 354-359 (1962)

Brody, M. and R. Emerson: The effect of wavelength and intensity of light on the proportion of pigments in Porphyridium cruentum
Am. J. Bot. 46, 433-440 (1959)

Brown, T.E. and F.L. Richardson: The effect of growth environment on the physiology of algae: light intensity
J. Phycol. 4, 38-54 (1968)

Buder, J.: Zur Kenntnis der phototaktischen Richtungsbewegungen
Jb. wiss. Bot. 58, 105-220 (1917)

Bünning, E. und G. Schneiderhöhn: Über das Aktionsspektrum der phototaktischen Reaktionen von Euglena
Arch. Mikrobiol. 24, 80-90 (1956)

Checcucci, A., G. Colombetti, G. del Carratore and F. Lenci: Photomotion in Euglena gracilis
In: Progress in Photobiology, Proc. VI. Intern. Congr. Photobiol., Bochum 1972 (G.O. Schenk ed.), 355 (1974)

Checcucci, A., G. Colombetti, R. Ferrara and F. Lenci: Action spectra for photoakkumulation of green and colorless Euglena: evidence for identification of receptor pigments
Photochem. Photobiol. 23, 51-54 (1976)

Chevallier, D., R. Douce et F. Nurit: Interactions entre mitochondries et chloroplastes dans la cellule. II. Action du DBMIB, de l'antimycine A et du FCCP sur la spore de Funaria hygrometrica
Can. J. Bot. 55, 1650-1659 (1977)

Clayton, R.K.: Patterns of accumulation resulting from taxes and changes in motility of micro-organisms
Arch. Mikrobiol. 27, 311-319 (1957)

Clayton, R.K.: Phototaxis in microorganisms
In: Photophysiology (A.C. Giese ed.), Vol. II, 51-77, Academic Press, New York, London (1964)

Clement-Metral, J.D., M. Lefort-Tran and M. Pouphile: Ionic induced changes in the membrane structure and fluorescence of intact and glutaraldehyde fixed Porphyridium cruentum chloroplasts in vivo
In: Photosynthesis, two centuries after its discovery by

Joseph Priestley, Proc. 2. Intern. Congr. Photosynth. Res., Stresa 1971, Vol. II (G. Forti, M. Avron and A. Melandri eds.), 1517-1522, Dr. W. Junk N.V. Publishers, The Hague (1972)

Cohn, F.: Über die Gesetze der Bewegung der mikroskopischen Pflanzen und Thiere unter Einfluß des Lichtes Hedwigia 11, 161-166 (1866)

Collomb, M. l'Abbé: Observations sur quelques phénomènes particuliers à une matière verte J. Physique 39 part II, 169-184 (1791)

Diakoff, S. and J. Scheibe: Action spectra for chromatic adaptation in Tolypothrix tenuis Plant Physiol. 51, 382-385 (1973)

Diakoff, S. and J Scheibe: Cultivation in the dark of the blue-green alga Fremyella diplosiphon. A photoreversible effect of green and red light on growth rate Physiol. Plant. 34, 125-12 (1975)

Diehn, B.: Mechanism and computer simulation of the phototactic accumulation of Euglena in a beam of light Photochem. Photobiol. 11, 407-418 (1970)

Diehn, B.: Phototaxis and sensory transduction in Euglena Science 181, 1009-1015 (1973)

Diehn, B., J.R. Fonseca and T.L. Jahn: High speed cinematography of the direct photophobic response of Euglena and the mechanism of negative phototaxis J. Protozool. 22, 492-494 (1975)

Diehn, B. and B. Kint: The flavin nature of the photoreceptor molecule for phototaxis in Euglena Physiol. Chem. Phys. 2, 483-488 (1970)

Diehn, B. and G. Tollin: Phototaxis in Euglena. III. Lag phemomena and the overall mechanism of the tactic response to light Photochem. Photobiol. 5, 839-844 (1966)

Diehn, B. and G. Tollin: Phototaxis in Euglena. IV. Effect of inhibitors of oxidative and photophosphorylation on the rate of phototaxis

Arch. Biochem. Biophys. 121, 169-177 (1967)

Döhler, G., H. Bürstell und G. Jilg-Winter: Pigmentzusammensetzung und photosynthetische CO_2-Fixierung von Cyanidium caldarium und Porphyridium aerugineum
Biochem. Physiol. Pflanzen 170, 103-110 (1976)

Doucha, J. and Š. Kubín: Measurement of in vivo absorption spectra of microscopic algae using bleached cells as a reference sample
Arch. Hydrobiol., Suppl. 49, 199-213 (1976)

Duysens, L.N.M.: Photobiological principles and methods
In: Photobiology of microorganisms (P. Halldal ed.), 1-16, Wiley-Interscience, London, New York, Sidney, Toronto (1970)

Feinleib, M.E.H.: Phototactic orientation in Chlamydomonas
In: Progress in Photobiology, Proc. VI. Intern. Congr. Photobiol., Bochum 1972 (G.O.Schenk ed.) 356 (1974)

Feinleib, M.E.H.: Phototactic response of Chlamydomonas to flashes of light. I. Response of cell populations
Photochem. Photobiol. 21, 351-354 (1975)

Forti, G. and P. Gerola: Inhibition of photosynthesis by azide and cyanide and the role of oxigen in photosynthesis
Plant Physiol. 59, 859-862 (1977)

Forti, G. and B. Parisi: Evidence for the occurence of cyclic phosphorylation in vivo
Biochim. Biophys. Acta 71, 1-6 (1963)

Forward, R.B. jr.: Change in the photoresponse action spectrum of the dinoflagellate Gyrodinium dorsum Kofoid by red and far-red light
Planta (Berlin) 92, 248-258 (1970)

Forward, R.B. jr.: Phototaxis in a dinoflagellate: action spectra as evidence for a two-pigment system
Planta (Berlin) 111, 167-178 (1973)

Forward, R.B. jr. and D. Davenport: Red and far-red light effects on a short-term behavioral response of a dinoflagellate
Science 161, 1028-1029 (1968)

Frech, C.S. and D.C. Fork: Two primary photochemical reactions in photosynthesis driven by different pigments
In: Proc. V. Intern. Congr. Biochem., Moscow 1961, Vol. VI (H. Tamiya ed.), 122-137, Pergamon Press, Oxford, London, New York, Paris; PWN, Warsaw (1963)

French, C.S. and V.K. Young: The fluorescence spectra of red algae and the transfer of energy from phycoerythrin to phycocyanin and chlorophyll
J. gen. Physiol. 35, 873-890 (1952)

Frickel-Faulstich, B.: Veränderungen im photosynthetischen Elektronentransport einzelliger Grünalgen während des Entwicklungszyklus
Diss. Marburg (1974)

Fujimori, E. and J. Pecci: pH-dependent association of the phycoerythrin subunit
Biochim. Biophys. Acta 207, 259-261 (1970)

Fujita, Y. and A. Hattori: Photochemical interconversion between precursors of phycobilin chromoproteids in Tolypothrix tenuis
Plant Cell Physiol. 3, 209-220 (1962)

Fujita, Y. and A. Hattori: Effects of second chromatic illumination on phycobilin chromoprotein formation in chromatically preilluminated cells of Tolypothrix tenuis
In: Microalgae and Photosynthetic Bacteria, 431-440, The University of Tokyo Press (1963)

Gaidukov, I.N.: Die komplementäre chromatische Adaptation bei Porphyra und Phormidium
Ber. Dtsch. Bot Ges. 24, 1-5 (1906)

Gantt, E. and S.F. Conti: Granules associated with the chloroplast lamellae of Porphyridium cruentum
J. Cell Biol. 29, 424-434 (1966)

Gantt, E. and C.A. Lipschultz: Phycobilisomes of Porphyridium cruentum. I. Isolation
J. Cell Biol. 54, 313-324 (1972)

Geitler, L.: Das Bewegungsverhalten von Porphyridium cruentum am natürlichen Standort
Österr. Bot Zeitschr. 100, 672-676 (1953)

Gense, M.-T-., E. Guérin-Dumartrait, J.-C. Leclerc et S. Mihara: Synchronisation de Porphyridium: évolution des quantités de pigments et de la capacité photosynthétique au cours du cycle biologique
Phycologia 8, 135-141 (1969)

Gimmler, H.: Photophosphorylation in vivo
In: Enzyclopedia of Plant Physiology, N.S. Vol. 5: Photosynthesis I (A. Trebst, M. Avron eds.), 448-472, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1977)

Gimmler, H. and M. Avron: The effect of dibromothymoquinone on photosynthetic electron transport reactions in whole cells of the red alga Porphyridium cruentum
In: Photosynthesis, two centuries after its discovery by Joseph Priestley, Proc. 2. Intern. Congr. Photosynth. Res., Stresa 1971, Vol. I (G. Forti, M. Avron and A. Melandri eds.), 789-800, Dr. W. Junk N.V. Publishers, The Hague (1972)

Gimmler, H., W. Urbach, W.D. Jeschke und W. Simonis: Die unterschiedliche Wirkung von Disalicylidenpropandiamin auf die cyclische und nichtcyclische Photophosphorylierung in vivo sowie auf die ^{14}C-Markierung einzelner Photosyntheseprodukte
Z. Pflanzenphysiol. 58, 353-364 (1968)

Gingras, G., C. Lemasson and D.C. Fork: A study of the mode of action of 3-(3,4-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea on photosynthesis
Biochim. Biophys. Acta 69, 438-440 (1963)

Glazer, A.N. and C.S. Hixson: Subunit structure and chromophore composition of rhodophytan phycoerythrins
J. Biol. Chem. 252, 32-42 (1977)

Goedheer, J.C.: Energy transfer from carotinoids to chlorophyll in blue-green, red and green algae and greening bean leaves
Biochim. Biophys. Acta 172, 252-256 (1969)

Good, N.E. and S. Izawa: Inhibition of photosynthesis
In: Metabolic Inhibitors, Vol. IV (R.M. Hochster, M. Kates, J.H. Quastel eds.), 180-214, Academic Press, New York, London (1973)

Gössel, I.: Über das Aktionsspektrum der Phototaxis chlorophyllfreier Euglenen und über die Absorption des Augenflecks
Arch. Mikrobiol. 27, 288-350 (1957)

Häder, D.-H.: Untersuchungen zur Photo-phobotaxis bei Phormidium uncinatum
Diss. Marburg (1973)

Häder, D.-P.: The effect of inhibitors on the electron flow triggering photo-phobic reactions in Cyanophyceae
Arch. Microbiol. 103, 169-174 (1975)

Häder, D.-P.: Further evidence for the electron pool hypothesis. The effect of KCN and DSPD on the photophobic reaction in the filamentous blue-green alga Phormidium uncinatum
Arch. Microbiol. 110, 301-303 (1976)

Häder, D.-P. and W. Nultsch: Negative photo-phobotactic reactions in Phormidium uncinatum
Photochem. Photobiol. 18, 311-317 (1973)

Halldal, P.: Actionspectra of phototaxis and related problems in Volvocales, Ulva-gametes and Dinophyceae
Physiol. Plant. 11, 118-153 (1953)

Halldal, P.: Zur Frage des Photoreceptors bei der Topophototaxis der Flagellaten
Ber. Dtsch. Bot. Ges. 76, 323-327 (1963)

Hand, W.G.: Phototactic orientation by the marine dinoflagellate Gyrodinium dorsum Kofoid
J. exp. Zool. 174, 33-38 (1970)

Hand, W.G. and D. Davenport: The experimental analysis of phototaxis and photokinesis in flagellates
In: Photobiology of Microorganisms (P. Halldal ed.), 253-282, Wiley-Interscience, London, New York, Sydney, Toronto (1970)

Hand, W.G., R. Forward jr. and D. Davenport: Short-term photic regulation of a receptor mechanism in a dinoflagellate
Biol. Bull. 133, 150-165 (1967)

Hand, W.G. and W. Haupt: Flagellar activity of the colony members of Volvox aureus Ehrenbg. during light stimulation
J. Protozool. 18, 361-364 (1971)

Haupt, W.: Die Phototaxis der Algen
In: Handbuch der Pflanzenphysiologie (W. Ruhland ed.), XVII/1, 318-370, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1959)

Haupt, W.: Locomotion
Fortschr. Bot. 36, 177-185 (1974)

Heber, U.: Conformational changes of chloroplasts induced by illumination of leaves in vivo
Biochim. Biophys. Acta 180, (1969)

Hewitt, E.J. and D.J.D. Nicholas: Cations and anions: inhibitions and interactions in metabolism and in enzyme activity
In: Metabolic Inhibitors, Vol. II (R.M. Hochster, J.H. Quastel eds.), 311-436, Academic Press, New York, London (1963)

Hill, S.A. and M.R. Sommerfeld: Actionspectrum of phototopotaxis for Porphyridium purpureum
J. Phycol. 13, Suppl., 29 (1977)

Hoarau, J. and J.C. Leclerc: Low temperature absoption spectrum studies: light-induced pigment changes in Porphyridium cultures
Photochem. Photobiol. 17, 403-412 (1973)

Huber, S.C. and G.E. Edwards: Effect of DBMIB, DCMU and antimycin A on cyclic and noncyclic electron flow in C4 mesophyll chloroplasts
FEBS Letters 58, 211-214 (1975)

Ingenhousz, J.: Vermischte Schriften physisch-medicinischen Inhalts (übersetzt u. ed. v. N.C. Molitor), 2. Aufl., Wien (1784)

Izawa, S., J.M. Gould, D.R. Ort, P. Felker and N.E. Good: Electron transport and photophosphorylation in chloroplasts as a function of the electron acceptor. III. A dibromothymoquinone-insensitive phosphorylation reaction associated with photosystem II
Biochim. Biophys. Acta 305, 119-128 (1973)

Izawa, S.: High concentration effects of Hill reaction inhibitors on isolated chloroplasts
In: Progress in Photosynthesis Research, Vol. 3 (H. Metzner ed.), 1742-1751 (1969)

Joliot, P., A. Joliot and B. Kok: Analysis of the interactions between the two photosystems in isolated chloroplasts
Biochim. Biophys. Acta 153, 635-652 (1968)

Jørgensen, E.G.: Adaptation to different light intensities in the diatom Cyclotella meneghiniana Kütz.
Physiol. Plant. 17, 137-145 (1964)

Jones, R.F., H.L. Speer and W. Kury: Studies on the growth of the red alga Porphyridium cruentum
Physiol. Plant. 16, 636-643 (1963)

Kaiser, W. and W. Urbach: Rates and properties of endogenous cyclic photophosphorylation of isolated intact chloroplasts measured by CO_2 fixation in the presence of dihydroxyacetone phosphate
Biochim. Biophys. Acta 423, 91-102 (1976)

Katoh, S., K. Satoh, I. Ikegami, M. Kimimura and A. Takamiya: Electron transport system associated with oxygen evolution in chloroplasts. Reaction sites of inhibitors and electron donors
In: Photosynthesis, two centuries after its discovery by Joseph Priestley, Proc. 2. Intern. Congr. Photosynth. Res.,

Stresa 1971, Vol. I (G. Forti, M. Avron and A. Melandri eds.), 525-537, Dr. W. Junk N.V. Publishers, The Hague (1972)

Kitajima, M. and W.L. Butler: Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone
Biochim. Biophys Acta 376, 1o5-115 (1975)

Koch, W.: Untersuchungen an bakterienfreien Massenkulturen der einzelligen Rotalge Porphyridium cruentum Naegeli
Arch. Mikrobiol. 18, 232-241 (1953)

Kok, B.: On the inhibition of photosynthesis by intense light
Biochim. Biophys. Acta 21, 234-244 (1956)

Kouchkovsky, Y. de: Study of the chlorophyll fluorescence in chloroplasts and algae with the plastoquinone antagonist dibromothymoquinone
Biochim. Biophys. Acta 376, 259-267 (1975)

Larkum, A.W.D. and S.K. Weyrauch: Photosynthetic action spectra and light-harvesting in Griffithsia monilis (Rhodophyta)
Photochem. Photobiol. 25, 65-72 (1977)

Leclerc, J.C., J. Hoarau and E. Guérin-Dumartrait: An analysis of Porphyridium absorption bands with a digital spectrophotometer
Photochem. Photobiol. 22, 41-48 (1975)

Leibo, S.P. and R.F. Jones: Freezing of the chromoprotein phycoerythrin from the red alga Porphyridium cruentum
Arch. Biochem. Biophys. 106, 78-88 (1964)

Leewenhoek, A. van: Ondekte onsigtbaarheeden, Bd. III, Luijden (1696)

Ley, A.C. and W.L. Butler: The efficiency of energy transfer from photosystem II to photosystem I in Porphyridium cruentum
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73, 3957-3960 (1976)

Ley, A.C., W.L. Butler, D.A. Bryant and A.N. Glazer: Isolation and function of allophycocyanin B of Porphyridium cruentum
Plant Physiol. 59, 974-980 (1977)

Lin, H., M.R. Sommerfeld and J.R. Swafford: Light and electron microscope observations on motile cells of Porphyridium purpureum (Rhodophyta)
J. Phycol. 11, 452-457 (1975)

Links, J.: I. Een hypothese over het mechanisme van de (phobo-) chemotaxis. II. De carotenoiden, steroiden en vetzuren van Polytoma uvella
Diss. Leiden (1955)

Mast, S.O.: The relation between spectral colour and stimulation in the lower organisms
J. exp. Zool. 22, 471-528 (1917)

Mikolajczyk, E. and B. Diehn: Light induced body movement of Euglena gracilis coupled to flagellar photophobic responses by mechanical stimulation
J. Protozool. 23, 144-147 (1976)

Murata, N.: Control of excitation transfer in photosynthesis I. Light-induced change of chlorophyll a fluorescence in Porphyridium cruentum
Biochim. Biophys. Acta 172, 242-251 (1969)

Murata, N.: Control of excitation transfer in photosynthesis IV. Kinetics of chlorophyll a fluorescence in Porphyra yezoensis
Biochim. Biophys. Acta 205, 379-389 (1970)

Myers, J. and G.O. Burr: Studies on photosynthesis. Some effects of light intensity on Chlorella
J. gen. Physiol. 24, 45-67 (1940)

Nichols, K.E. and L. Bogorad: Action spectra studies of phycocyanin formation in a mutant of Cyanidium caldarium
Bot. Gaz. 124, 85-93 (1962)

Nultsch, W.: Studien über die Phototaxis der Diatomeen
Arch. Protistenk. 101, 1-68 (1959)

Nultsch, W.: Der Einfluß des Lichtes auf die Bewegung der Cyanophyceen. I. Phototopotaxis von Phormidium autumnale
Planta (Berlin) 56, 632-647 (1961)

Nultsch, W.: Der Einfluß des Lichtes auf die Bewegung der Cyanophyceen. II. Photokinesis bei Phormidium autumnale
Planta (Berlin) 57, 613-623 (1962 a)

Nultsch, W.: Der Einfluß des Lichtes auf die Bewegung der Cyanophyceen . III. Photophobotaxis von Phormidium uncinatum
Planta (Berlin) 58, 647-663 (1962 b)

Nultsch, W.: Light reaction systems in cyanophyceae
Photochem. Photobiol. 4, 613-619 (1965)

Nultsch, W.: Untersuchungen über den Einfluß von Entkopplern auf die Bewegungsaktivität und das phototaktische Reaktionsverhalten blaugrüner Algen
Z. Pflanzenphysiol. 56, 1-11 (1967)

Nultsch, W.: Einfluß von Redox-Systemen auf die Bewegungsaktivität und das phototaktische Reaktionsverhalten von Phormidium uncinatum
Arch. Mikrobiol. 63, 295-320 (1968)

Nultsch, W.: Phototactic and photokinetic action spectra of the diatom Nitzschia communis
Photochem. Photobiol. 14, 705-712 (1971)

Nultsch, W.: Relations between photomotion and photosynthesis
In: Primary molecular events in photobiology (A. Checcucci and R.A. Weale eds.), 245-273, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, London, New York (1973 a)

Nultsch, W.: Phototaxis and photokinesis in bacteria and blue-green algae
In: Behaviour of Microrganisms (A. Pérez-Miravete ed.), 70-81, Plenum Press, London, New York (1973 b)

Nultsch, W.: Der Einfluß des Lichtes auf die Bewegung phototropher Mikroorganismen. I. Photokinesis
Abhandlungen der Marburger Gelehrten Gesellschaft, Jg. 1972,

Nr. 2, 140-213 (1974)

Nultsch, W.: Phototaxis and photokinesis
In: Primitive Sensory and Communication Systems (M.J. Carlile ed.), 29-90, Academic Press, London, New York, San Francisco (1975)

Nultsch, W. und D.-P. Häder: Bestimmung der photo-phobotaktischen Unterschiedsschwelle bei Phormidium uncinatum
Ber. Dtsch. Bot. Ges. 83, 185-192 (1970)

Nultsch, W. und D.-P. Häder: Über die Rolle der beiden Photosysteme in der Photo-phobotaxis von Phormidium uncinatum
Ber. Dtsch. Bot. Ges. 87, 83-92 (1974)

Nultsch, W. und W. Hellmann: Untersuchungen zur Photokinesis von Anabaena variabilis Kützing
Arch. Mikrobiol. 82, 76-90 (1972)

Nultsch, W. und Jeeji-Bai: Untersuchungen über der Einfluß von Photosynthese-Hemmstoffen auf das phototaktische und photokinetische Reaktionsverhalten blaugrüner Algen
Z. Pflanzenphysiol. 54, 84-98 (1966)

Nultsch, W., G. Throm und I. von Rimscha: Phototaktische Untersuchungen an Chlamydomonas reinhardii Dangeard in homokontinuierlicher Kultur
Arch. Mikrobiol. 80, 351-369 (1971)

O'Carra, P. and C. O'hEocha: Algal biliproteins and phycobilins
In: Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments, Vol. I (T.W. Goodwin ed.), 2. Aufl., 328-376 (1976)

O'hEocha, C.: The comparative biochemistry of phycoerythrins and phycocyanins
Thesis, University of California, Los Angeles (1955)

Olivi, G.: Scoperta e spiegazione del fenomeno del movimento progressivo d'una Converva infusoria (Materia verde di Priestley) verso la luce
[Übersetzung v. P. Usteri: Untersuchung und Erklärung einer beobachteten fortgehenden Bewegung der Conferva infusoria (grüne Materie des Priestley) gegen das Licht]

In: Annalen der Botanick (P. Usteri ed.), Bd. 2, 6. Stück, 30-56 (1793)

Oltmanns, F.: Über die Cultur- und Lebensbedingungen der Meeresalgen
Jb. wiss. Bot. 23, 349-440 (1892)

Oltmanns, F.: Über Phototaxis
Z. Bot. 9, 257-338 (1917)

Orr, A.R., J.E. Kessler, and E.R. TePaske: DCMU induced inhibition of growth, photosynthesis and motility in Eudorina elegans cultures
Am. J. Bot. 63, 973-978 (1976)

Raven, J.A.: Effects of inhibitors on photosynthesis and the active influxes of K and Cl in Hydrodictyon africanum
New Phytolog. 68, 1089-1113 (1969)

Raven, J.A.: The role of cyclic and pseudocyclic photophosphorylation in photosynthetic $^{14}CO_2$ fixation in Hydrodictyon africanum
J. exp. Bot. 21, 1-16 (1970)

Rensen, J.J.S. van: Polyphosphate formation in Scenedesmus in relation to photosynthesis
In: Progress in Photosynthesis Research, Vol. III (H. Metzner ed.), 1769-1776 (1969)

Rensen, J.J.S. van: Action of some herbicides in photosynthesis of Scenedesmus as studied by their effects on oxygen evolution and cyclic photophosphorylation
Meded. Landbouwhogeschool Wageningen 71, 1-80 (1971)

Ried, A., B. Hessenberg, H. Metzler, and R. Ziegler: Distribution of excitation energy among photosystem I and photosystem II in red algae. I. Action spectra of light reactions I and II
Biochim. Biophys. Acta 459, 175-186 (1977)

Ried, A. and B. Reinhardt: Distribution of excitation energy between photosystem I and photosystem II in red algae. II. Kinetics of the transition between state 1 and state 2
Biochim. Biophys. Acta 460, 25-35 (1977)

Robinson, S.J. and C.F. Yokum: Site-specific electron transport

reactions in intact cells of a blue-green alga
Plant Physiol., Suppl. 59, 30 (1977)

Rurainski, H.J.: Antagonistic relationships between electron transport and P_{700} in chloroplasts and intact algae
Z. Naturforsch. 306, 761-770 (1975)

Rurainski, H.J., J. Randles and G.E. Hoch: A comparative study of photosynthetic electron transport in algal cells and spinach chloroplasts
Biochim. Biophys. Acta 205, 254-262 (1970)

Pfeffer, W.: Pflanzenphysiologie, Bd. 2, 2. Aufl. Leipzig (1904)

Pringsheim, E.G.: Kleine Mitteilungen über Flagellaten und Algen. XV. Zur Kenntnis der Gattung Porphyridium (Rhodophyceae)
Arch. Mikrobiol. 61, 169-180 (1968)

Satoh, K., R. Strasser and W.L. Butler: A demonstration of energy transfer from photosystem II to photosystem I in chloroplasts
Biochim. Biophys. Acta 440, 337-345 (1976)

Schäfer, M.: ATP-pool-Bestimmung und Konformationsänderungen während des Entwicklungsverlaufes von Scenedesmus obliquus in Synchronkulturen
Diss. Marburg (1975)

Schlegel, H.G.: Vergleichende Untersuchungen über die Lichtempfindlichkeit einiger Purpurbakterien
Arch. Protistenk. 101, 69-97 (1956)

Schletz, K.: Phototaxis bei Volvox - Pigmentsysteme der Lichtrichtungsperzeption
Z. Pflanzenphysiol. 77, 189-211 (1976)

Schmid, G.: Zur Kenntnis der Oscillarienbewegung
Flora 111, 327-379 (1918)

Schönbohm, E.: Untersuchungen über den Einfluß von Photosynthesehemmstoffen und Halogeniden auf die Starklicht- und Schwachlichtbewegung des Chloroplasten von Mougeotia spec.
Z. Pflanzenphysiol. 60, 255-269 (1969)

Seely, G.R.: Energy transfer in a model of the photosynthetic unit of green plants
J. theor. Biol. 40, 189-199 (1973)

Senger, H., J. Pfau and K. Werthmüller: Continuous automatic cultivation of homocontinuous and synchronized microalgae
In: Methods in Cell Physiology, Vol. V, 301-323, Academic Press, New York, London (1972)

Simonis, W.: Untersuchungen zur Photosynthese-Phosphorylierung an intakten Algenzellen
Ber. Dtsch. Bot. Ges. 77, (5)-(13) (1964)

Stavis, R.L.: The effect of azide on phototaxis in Chlamydomonas reinhardi
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71, 1824-1827 (1974)

Steemann Nielsen, E.: Inactivation of the photochemical mechanism in photosynthesis as a means to protect the cells against too high light intensities
Physiol. Plant. 15, 161-171 (1962)

Strasburger, E.: Wirkungen des Lichtes und der Wärme auf Schwärmsporen
Jenaische Zschr. Naturwiss. 12, 551-625 (1878)

Tel-Or, E. and S. Malkin: The photochemical and fluorescence properties of whole cells, spheroplasts and spheroplast particles from the blue-green alga Phormidium luridum
Biochim. Biophys. Acta 459, 157-174 (1977)

Throm, G.: Untersuchungen zum Reaktionsmechanismus von Phobotaxis und Kinesis an Rhodospirillum rubrum
Arch. Protistenk. 110, 313-371 (1968)

Trebst, A.: Energy conservation in photosynthetic electron transport of chloroplasts
Ann. Rev. Plant Physiol. 25, 423-458 (1974)

Trebst, A.: Coupling sites, native and artificial, in photophosphorylation by isolated chloroplasts

Trends Biochem. Sci. 1, 60-62 (1976)

Trebst, A. und M. Burba: Über die Hemmung photosynthetischer Reaktionen in isolierten Chloroplasten und in Chlorella durch Disalicylidenpropandiamin
Z. Pflanzenphysiol. 57, 419-433 (1967)

Trebst, A., E. Harth and W. Draber: On a new inhibitor of photosynthetic electron-transport in isolated chloroplasts
Z. Naturforsch. 25 b, 1157-1159 (1970)

Trebst, A. und G. Hauska: Energiekonservierung in der photosynthetischen Membran der Chloroplasten
Naturwiss. 61, 3o8-316 (1974)

Trebst, A. and S. Reimer: Properties of photoreductions by photosystem II in isolated chloroplasts
Biochim. Biophys. Acta 305, 129-139 (1973)

Treviranus, G.R.: Biologie oder Philosophie der lebenden Natur für Naturforscher und Aerzte, Bd. 2, Göttingen (1803)

Treviranus, L.C.: Fernere Beobachtungen über die Bewegungen der grünen Materie im Pflanzenreiche
In: Vermischte Schriften anatomischen und physiologischen Inhalts, Bd. 2, 71-92 (1817)

Urbach, W. and W. Kaiser: Changes of ATP levels in green algae and intact chloroplasts by different photosynthetic reactions
In: Photosynthesis, two centuries after its discovery by Joseph Priestley, Proc. 2. Intern. Congr. Photosynth. Res., Stresa 1971, Vol. II (G. Forti, M. Avron and A. Melandri eds.), 1401-1411, Dr. W. Junk N.V. Publishers, The Hague (1972)

Vischer, W.: Porphyridium cruentum (Ag.) Naeg. und die Bewegung seiner Monosporen
Ber. schweiz. bot. Ges. 65, 459-474 (1955)

Vogelmann, T.C. and J. Scheibe: Action spectra for chromatic adaptation in the blue-green alga Fremyella diplosiphon Drouet

Plant Physiol., Suppl. 59, 48 (1977)

Wang, R.T., C.L.R. Stevens and J. Myers: Action spectra for photoreactions I and II of photosynthesis in the blue-green alga Anacystis nidulans
Photochem. Photobiol. 25, 103-108 (1977)

Watanabe, M. and M. Furuya: Action spectrum of phototaxis in a cryptomonad alga, Cryptomonas spec.
Plant Cell Physiol. 15, 413-420 (1974)

Watanabe, M., Y. Miyoshi, and M. Furuya: Phototaxis in Cryptomonas sp. under conditions suppressing photosynthesis
Plant Cell Physiol. 17, 683-690 (1976)

Yamashita, K., K. Konishi, M. Itoh and K. Shibata: Photobleaching of carotenoids related to the electron transport in chloroplasts
Biochim. Biophys. Acta 172, 511-524 (1969)

Yokum, C.S. and L.R. Blinks: Light induced efficiency and pigment alterations in red algae
J. gen. Physiol. 41, 1113-1117 (1958)

Wenderoth, K.: Untersuchungen der Photo-phobotaktischen Reaktionen einzelner Diatomeenzellen
Diss. Marburg (1975)

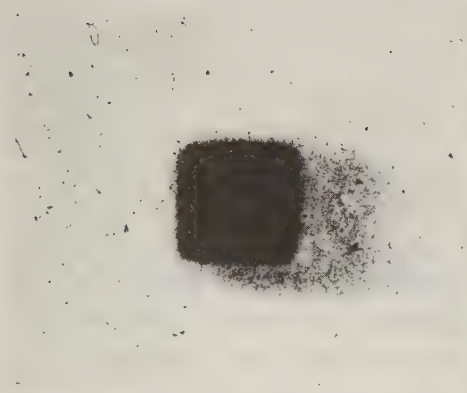
Beschreibung der Tafel:

Tafel 1.1: Fallenansammlung im Weißlicht (10 000 Lux) mit einer zweiten, unscharfen und seitlich versetzten Ansammlung, die durch Reflexion des Lichtfeldes vom nicht mattierten Schalendeckel entstanden ist. Die seitliche Verschiebung der Fallenansammlung ist auf den leicht divergenten Strahlengang des eingestrahlten Fallenlichts zurückzuführen.

Tafel 1.2: Ansammlung von Porphyridium in einer Lichtfalle (BG 12, 1000 erg . cm^{-2} . s^{-1}) hinter einem Spalt von 1 mm Breite. Die Randschärfe der Lichtfalle und damit ihre phobische Wirksamkeit nehmen mit zunehmender Schichtdicke des Agars ab.

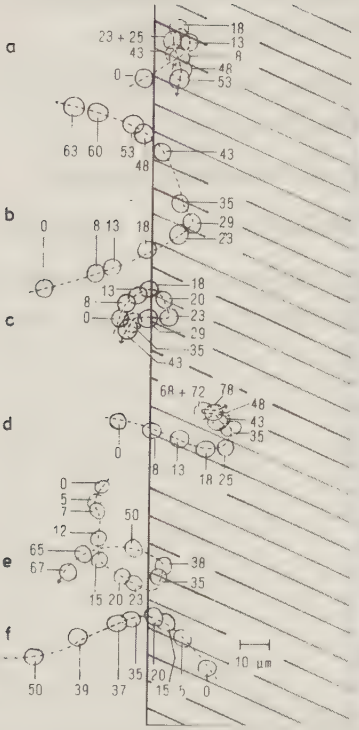
Tafel 1.3: Phobische Reaktionen von einzelnen Zellen beim Verlassen (a,b,c,d) eines Lichtfeldes (Weißlicht, 6500 Lux). Einige Zellen gelangen trotz mehrfachen Richtungswechsels nicht mehr in das Lichtfeld zurück (a,d). Zellen, die aus dem dunklen Feld (rechts) kommend in das Lichtfeld eintreten, zeigen keine phobischen Reaktionen (f). Die Zahlen geben den Zeitraum seit Beginn der Beobachtung in Minuten an.

Tafel 1.4: Fallenansammlung in einer 3 x 3 mm großen Lichtfalle (Blaulicht, BG 12, 1000 erg . cm^{-2} . s^{-1}) ohne Hintergrundbeleuchtung. Starker Randeffekt (R) und topischer Ansammlungshof (A). Die Anordnung von Zellen in konzentrischen Ringen um die Lichtfalle ist noch in mehreren Millimetern Entfernung von der Falle zu erkennen.

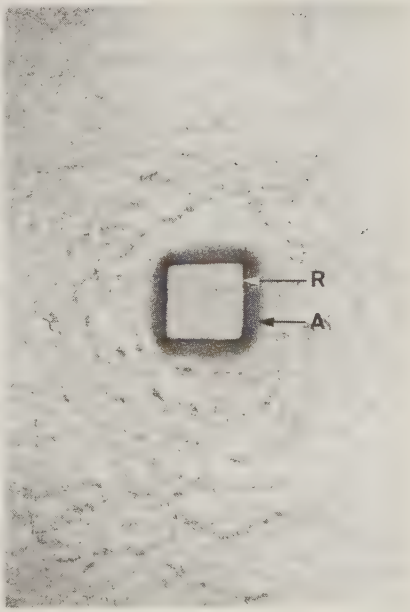


Tafel 1.1

Tafel 1.2



Tafel 1.3



Tafel 1.4

Lebenslauf

Name:	Schuchart
Vorname:	Hartwig
17. Mai 1944	geboren in Grebenstein (Reg. Bez. Kassel) als Sohn des Volksschullehrers Herbert Schuchart und seiner Ehefrau Christel, geb. Hilzebecher
1950 - 1954	Besuch der Volksschulen in Gewissenruh und Schäferberg/Espenau
1954 - 1963	Besuch des Realgymnasiums Goetheschule in Kassel. Reifeprüfung am 4.3.1963
1963 - 1969	Studium der Biologie und Germanistik an der Philipps-Universität Marburg
25. Nov. 1966	Vorprüfung für das Lehramt an Gymnasien
1. Dez. 1969	Staatsexamen für das Lehramt an Gymnasien
Seit 1. März 1970	Wissenschaftlicher Angestellter und Doktorand am Botanischen Institut der Philipps-Universität Marburg